



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

**BASES NEUROFISIOLÓGICAS DE LA PRODUCCIÓN DE  
INTERVALOS DE TIEMPO EN EL NEOESTRIADO DEL  
PRIMATE**

**T E S I S**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:  
**RAMÓN BARTOLO OROZCO**

DIRECTOR DE TESIS  
**DR. HUGO MERCHANT NANCY**  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR  
**DRA. MARÍA MAGDALENA GIORDANO NOYOLA**  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA  
**DR. JOSÉ BARGAS DÍAZ**  
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

CAMPUS JURQUILLA, QUERÉTARO. SEPTIEMBRE DE 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# Dedicatoria

---

Con enorme gratitud, quiero dedicar esta tesis a mis padres, Ramón Bartolo Barrios y Velia Orozco Álvarez, por su incondicional apoyo y por haberme empujado siempre a lograr más. A mis hermanas Karla y Gabriela.

# Contenido

---

	<u>Página</u>
<b>Agradecimientos</b>	1
<b>Resumen</b>	2
<b>Abstract</b>	3
<b>Parte 1. Introducción</b>	4
<b>Parte 2. Antecedentes</b>	8
2.1. Órdenes de magnitud de intervalos de tiempo y conductas relacionadas	8
2.2. Estudios de psicofísica e inferencias sobre los mecanismos subyacentes al procesamiento de información temporal	10
2.2.1. Comparación de la conducta en múltiples contextos	12
2.2.2. Aprendizaje en la cuantificación del tiempo	16
2.2.3. Conducta temporal en monos Rhesus ( <i>Macaca mulatta</i> )	21
2.3. Correlatos neurales del procesamiento de información temporal	23
2.3.1. Evidencia farmacológica	23
2.3.2. Evidencia de neuroimagen funcional	25
2.3.3. Estudios de lesiones y enfermedades neurodegenerativas	27
2.3.4. Evidencia neurofisiológica	29
2.4. El neocórtex y circuitos corteza-ganglios de la base: anatomía y función	32
2.5. Teorías del procesamiento temporal y los ganglios de la base	36
2.6. Actividad oscilatoria y su relación con la conducta	38
2.6.1. La actividad oscilatoria se relaciona con el movimiento	41
2.6.2. La actividad oscilatoria se relaciona con procesos cognoscitivos	42
2.6.3. Conjunción de rasgos y sincronía neuronal	44
<b>Parte 3. Hipótesis y objetivos</b>	45
3.1. Planteamiento del problema	45
3.2. Hipótesis	46
3.3. Objetivos	46
<b>Parte 4. Métodos</b>	47
4.1. Conducta	47
4.2. Registro electrofisiológico	49
4.3. Ubicación de los sitios de registro	49

4.4. Análisis espectral	51
4.4.1. Estimación de los componentes espectrales	51
4.4.2. Alineación y normalización de los espectrogramas	56
4.4.3. Integración del poder espectral y caracterización de las modulaciones	57
4.4.4. Análisis de coherencia	58
4.5. Análisis de la relación de fase entre potenciales de acción y potenciales de campo	58
4.6. Análisis estadístico	60
4.6.1. Clasificación de los patrones de respuesta de las modulaciones de los LFP's	60
4.6.2. Sintonización en las modulaciones de los LFP's	61
<b>Parte 5. Resultados</b>	63
5.1. Sintonización en las modulaciones del poder espectral	63
5.1.1. Sintonización a la duración del intervalo	65
5.1.2. Sintonización a la estructura secuencial de la tarea	68
5.1.3. Las modulaciones en la banda $\gamma$ preceden a las modulaciones en la banda $\beta$ en sitios con sintonización a la duración.	73
5.2. Coherencia en la actividad oscilatoria entre sitios de registro	74
5.3. Relación entre actividad oscilatoria y potenciales de acción	75
5.3.1. Relación de fase	75
5.3.2. Sintonización a la estructura secuencial en neuronas únicas	77
<b>Parte 6. Discusión</b>	81
6.1. Sintonización neuronal y sintonización en la magnitud de los LFP	82
6.2. Relación entre oscilaciones del LFP y los patrones de disparo de neuronas únicas	83
6.3. Significado de la actividad oscilatoria en frecuencias de las bandas $\beta$ y $\gamma$	85
6.4. La actividad $\gamma$ precede a la actividad $\beta$	87
6.5. Sincronía local vs. global, conjunción de rasgos y selección de un plan motor	88
6.6. Conclusiones generales	89
<b>Literatura citada</b>	90
<b>Apéndice A.</b> Listado de funciones y rutinas de MATLAB utilizadas en el análisis de datos	97
<b>Apéndice B.</b> Currículum Vitae	100
<b>Apéndice C.</b> Artículo de investigación publicado en revista internacional indizada	104

# Agradecimientos

---

A la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas

Al personal de la Coordinación del Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas: Lic. Ivonne Torres Cortés (Secretaria Técnica), Angélica Téllez (Responsable de Apoyos), Zenaida Martínez Estrella (Responsable de Servicios Escolares).

Al **CONACYT**, agradezco la beca para estudios de Doctorado (No. Becario: 202421).

Al Instituto de Neurobiología.

Al personal de la Unidad de Enseñanza del Instituto de Neurobiología: Leonor Casanova Rico (Jefa de la Unidad de Enseñanza y Auxiliar del PDCB en la Entidad Académica), Leticia Segovia (Secretaria).

Al personal de la Biblioteca del Campus Juriquilla: Dr. Francisco Javier Valles Valenzuela (Coordinador), Lic. Teresa Soledad Medina Malagón (Desarrollo de Colecciones).

A los miembros de mi Comité Tutor: Dra. Magdalena Giordano Noyola (INB) y Dr. José Bargas Díaz (IFC).

A mi tutor, Dr. Hugo Merchant Nancy – Jefe de Grupo a cargo del Laboratorio de Neurofisiología de Sistemas en Primates.

Al Ing. Luis Antonio Prado Loeza, Técnico Académico, por su apoyo técnico.

Al Sr. Raúl Paulín Pineda, Auxiliar de Laboratorio, por su apoyo técnico.

Al Ing. Juan José Ortiz, por su apoyo en la adquisición de imágenes por Resonancia Magnética.

A los miembros del Jurado: Dr. Miguel Ángel Morales (Presidente), Dr. Hugo Merchant (Secretario), Dr. Luis Concha (Vocal), Dr. Ranier Gutiérrez (Vocal) y Dr. Luis Lemus (Vocal).

# Resumen

---

La actividad oscilatoria en potenciales locales de campo (LFP's) es un reflejo de la actividad sincronizada de células que componen un circuito neuronal, incluyendo la actividad sub-umbral (potenciales post-sinápticos). Se ha propuesto que la actividad oscilatoria en diferentes bandas de frecuencias refleja el estado funcional del circuito. De hecho, se han caracterizado cambios en la frecuencia de la actividad oscilatoria estriatal asociados a la adquisición de hábitos y a la utilización de guías sensoriales para implementación de respuestas previamente aprendidas. También se ha observado que cuando se presenta actividad en frecuencias de la banda  $\beta$  (10-30 Hz), esta es coherente en circuitos grandes que, inclusive, involucran diferentes estructuras cerebrales. En contraste, la actividad en la banda  $\gamma$  (35-80 Hz) es más localizada. En este contexto, estudiamos la actividad oscilatoria de circuitos estriatales de monos Rhesus mientras realizaban una tarea de producción de una secuencia de movimientos rítmicos. En una primera fase (de sincronización) los movimientos eran guiados por una serie de estímulos cortos (auditivos o visuales) e isocrónicos presentados a intervalos de 450-1000 ms. En una segunda fase (de continuación) los animales temporalizaban sus movimientos de manera interna, sin el beneficio de la guía sensorial, pero manteniendo el ritmo impuesto en la fase de sincronización. Entre ambas fases, cada ensayo de la tarea tuvo 6 elementos secuenciales: 3 intervalos de sincronización y 3 de continuación. Encontramos actividad oscilatoria que se presenta en ráfagas transitorias durante la ejecución de la tarea. La amplitud de las oscilaciones se sintoniza a la duración de los intervalos y/o al elemento secuencial de la tarea. Se encontraron ráfagas de actividad  $\gamma$  sintonizadas preferentemente a elementos secuenciales de la fase guiada por estímulos externos, particularmente cuando los registros se alinean a la presentación de los estímulos. En contraste, la actividad  $\beta$  predomina cuando los movimientos son generados de manera interna. Además, encontramos una relación funcional entre los potenciales de acción y la actividad de campo registrados en el mismo sitio. Por otra parte, encontramos también que la actividad  $\beta$  registrada de manera simultánea en sitios diferentes es altamente coherente y sincrónica entre sitios de registro, mientras que la actividad  $\gamma$  presenta una coherencia menor y tiende a desfasarse progresivamente en función de la distancia entre sitios de registro. En conjunto, nuestros resultados sugieren que la actividad  $\gamma$  refleja la integración de información sensorial que sería utilizada para seleccionar planes de acción y marcar cambios en el contexto conductual, mientras que la actividad  $\beta$  refleja la actividad conjunta de grandes circuitos neuronales cuando se temporalizan internamente los movimientos.

# Abstract

---

The oscillatory activity present in the Local Field Potential is a reflex of the synchronous activity of the neurons surrounding the electrode, including sub-threshold activity (excitatory and inhibitory post-synaptic potentials). It has been proposed that different frequencies of oscillation are indicative of different network states. In this line of thought, it has been showed that changes in the characteristic frequency of a striatal circuit are associated to habit acquisition and procedural learning, and that a particular frequency correlates to the utilization of a sensory cue to guide behavior, while other frequencies do not. In addition, it has been observed that oscillatory activity in frequencies of the  $\beta$ -band (10-30 Hz) is coherent and synchronous across large portions of a structure, and even across several cerebral structures. In contrast,  $\gamma$ -band (35-80 Hz) activity seems to be local. We studied the oscillatory activity of striatal circuits in macaque monkeys while they performed a rhythmic tapping task. The initial phase of this task, synchronization, begins with the presentation of a sensory metronome, consisting of a series of isochronous stimuli, visual or auditory in different blocks, separated by intervals in the 450-1000ms range. After 4 taps of the synchronization phase, the sensory metronome was extinguished, initiating the continuation phase, in which the animals were required to tap 3 more times maintaining the rhythm that was entrained in the synchronization phase, but now without sensory guidance. Hence, completing a trial of the task involved the correct production of 6 serially-ordered intervals (3-synchronization, 3-continuation). We found oscillatory activity in transient bursts during the task execution. The amplitude of the bursts was tuned to the duration and/or serial-order of the intervals.  $\gamma$ -bursts showed tuning functions that peaked during intervals belonging to the sensory-guided synchronization phase. By contrast, tuning functions of  $\beta$ -bursts peaked preferentially during intervals of the internally-driven continuation phase. In addition, we observed that single unit activity and oscillatory activity, recorded simultaneously by the same electrode show a stable phase-relation, confirming that oscillations are relevant to circuit function. On the other hand,  $\beta$ -bursts recorded simultaneously in different sites had a high coherence and synchrony even when the distance between electrodes was large ( $\sim 7$ mm), whereas  $\gamma$ -bursts had a low coherence and a tendency to go out of phase as the inter-electrode distance increased. Overall, the results suggest that  $\gamma$ -activity a) reflects the integration of sensory information used to engage specific motor patterns and b) is used to mark out contextual changes (bottom-up processing);  $\beta$ -activity, dissimilarly, would be a reflex of the engagement of a broad circuit, extending across several brain structures, involved in the generation of a stable, previously entrained motor pattern (top-down processing).



# Parte 1. Introducción

---

El tiempo es uno de los componentes fundamentales del universo. El continuo espacio-tiempo es el marco en el que ocurre todo proceso, incluyendo a la vida. Prácticamente todos los organismos, han desarrollado mecanismos que les permiten medir el paso del tiempo y coordinar sus actividades vitales. Resulta fácil comprender que el tiempo es una variable crítica para la realización de nuestras actividades cotidianas, siendo estas tan variadas como la coordinación motora durante la danza, la ejecución musical, el habla, la escritura o la práctica deportiva. El común de estas actividades es la activación orquestada, con una alta precisión temporal, de numerosos músculos, que deben activarse de manera secuencial en momentos justos, permanecer activos durante un periodo específico y después relajarse. Esta orquestación requiere del procesamiento de información temporal en el sistema nervioso.

El objetivo de la neurociencia cognitiva y conductual es conocer los mecanismos por los que el sistema nervioso recibe, procesa e interpreta la información que recibe del exterior (percepción) y genera un patrón complejo de acciones en respuesta a lo que ocurre en el exterior (conducta). En este contexto, los mecanismos neurales que permiten que un organismo organice en el tiempo su conducta, en función de la temporalidad con la que ocurren eventos externos, apenas comienzan a comprenderse.

La estructura temporal de diferentes procesos conductuales se organiza en una diversidad de órdenes de magnitud. Se han identificado mecanismos que operan específicamente en un orden de magnitud (Mauk y Buonomano, 2004; Buhusi y Meck, 2005), por ejemplo: el sistema circadiano, que cuantifica intervalos aproximadamente 24 horas (escala de los días); o el sistema de localización del origen de un sonido en el espacio, que cuantifica intervalos del orden de microsegundos. Entre estos dos extremos hay una mesoescala, con intervalos del orden de milisegundos, segundos y minutos. Existe evidencia que sugiere que para dicha mesoescala hay dos sistemas de procesamiento con cierto grado de independencia, uno de ellos se encarga de procesar intervalos de decenas y cientos de milisegundos (~50-1800 ms) en una escala conocida como “escala de los cientos de milisegundos”, y otro que opera en intervalos mayores a 2 segundos, conocida como “escala de los segundos y minutos” (Grondin, 2012).

Los mecanismos involucrados en el procesamiento de información temporal en la mesoescala han sido poco estudiados. Sin embargo, dada la importancia de los intervalos en la escala de los cientos de milisegundos para el control motor y la comunicación, una gran cantidad de evidencia respecto al funcionamiento del mecanismo asociado a esta escala se ha acumulado a partir de la década de 1990. Estudios conductuales han mostrado que dicho sistema cuantifica intervalos a partir de información sensorial de diferentes modalidades sensoriales (visual, auditiva, somatosensorial) con cierto nivel de independencia de la modalidad o del tipo de estímulo (Wright et al., 1997; Nagarajan et al., 1998; Merchant et al., 2008c). A partir de estudios conductuales, se ha sugerido que el sistema de cuantificación del tiempo en la escala de cientos de milisegundos podría estar organizado en subsistemas específicos para duraciones determinadas (Collyer et al., 1994; Wright et al., 1997; Meegan et al., 2000; Bartolo y Merchant, 2009). También se ha sugerido que dicho sistema de cuantificación del tiempo es común a la percepción del paso del tiempo y a la producción de movimientos temporalizados (Meegan et al., 2000; Planetta y Servos, 2008).

Las estructuras cerebrales involucradas en el procesamiento de información temporal han sido evidenciadas a través de diferentes enfoques experimentales. Estudios farmacológicos (Buhusi y Meck, 2002) sugieren un papel crucial del estriado (núcleo caudado y putamen) en la ejecución de tareas que involucran la cuantificación de tiempo. De hecho, numerosos estudios de Resonancia Magnética Funcional (Harrington et al., 1998; Rao et al., 2001; Coull et al., 2004) muestran una activación de circuitos corteza-ganglios basales-tálamo-corteza (CGBT), que involucran al área motora suplementaria de la corteza cerebral, el putamen y el tálamo, durante la ejecución de tareas de percepción y producción de intervalos en la escala de los “cientos de milisegundos”. Esto ha dado origen a teorías del procesamiento de información temporal en circuitos CGBT (Matell y Meck, 2004; Meck, 2006; Meck et al., 2008). Y se ha sugerido que estos circuitos conforman un núcleo principal para la cuantificación del tiempo, que recluta a otras estructuras en función de los requerimientos (motores, sensoriales, de memoria, etc.) específicos de la tarea que se debe completar (Merchant et al., 2013a).

Se ha estudiado el papel del área motora suplementaria, primer nodo de los circuitos CGBT (Figura 2.11, página 33), en la producción de secuencias de intervalos isocrónicos con duraciones de cientos de milisegundos (Merchant et al., 2011, 2013b). Se ha observado, por

ejemplo, que la actividad (tasa de disparo) de una población de neuronas se incrementa en función del tiempo transcurrido desde un evento, a modo de rampa. Otra población neuronal incrementa su actividad en función del tiempo que falta para que ocurra un evento. Además, neuronas de esta área codifican la duración mediante sintonización neuronal, esto es, incrementando selectivamente su actividad durante la producción de intervalos de una duración específica. Más aún, comúnmente las neuronas sintonizadas a la duración, también presentan sintonización a la estructura secuencial de la tarea, incrementando su tasa de disparo selectivamente en momentos específicos de la tarea, codificando al mismo tiempo información temporal e información sobre la estructura secuencial.

El segundo nodo en los circuitos CGBT es el estriado, que recibe aferencias masivas de la corteza cerebral y tiene acceso a información de regiones sensoriales, motoras y de asociación. Las neuronas espinosas medianas son las neuronas de proyección (salida) del estriado, y cada una recibe, en promedio  $\sim 30,000$  sinapsis de aferentes corticales y de interneuronas locales (Parent y Hazrati, 1995; Haber, 2003). La integración de tal cantidad de información en circuitos estriatales se refleja en la actividad de campo, que representa principalmente la entrada sináptica (Buzsáki et al., 2012). De hecho, numerosos estudios han mostrado una asociación entre la frecuencia de la actividad oscilatoria de campo y procesos conductuales. Por ejemplo, en regiones motoras, la actividad oscilatoria en la banda  $\beta$  (10-30 Hz) se incrementa después de la presentación de un estímulo que indica que se ejecute un movimiento, disminuyendo durante la ejecución del movimiento, y se incrementa nuevamente durante periodos de espera, en los que el movimiento debe ser inhibido (Sanes y Donoghue, 1993; Murthy y Fetz, 1996; Baker et al., 1997). También la actividad  $\beta$  se incrementa cuando un estímulo sensorial es utilizado como guía para ejecutar una respuesta particular, pero no cuando los estímulos no se asocian a una acción (Howe et al., 2011; Leventhal et al., 2012). Por otro lado, la actividad  $\beta$  parece tener un papel en la sincronización entre regiones distantes, se ha observado que la actividad  $\beta$  se presenta de manera sincrónica entre diferentes regiones del estriado (Howe et al., 2011) y que aparece casi simultáneamente en diferentes estructuras de circuitos CGBT (Leventhal et al., 2012).

Es importante señalar que, durante la ejecución del movimiento la actividad  $\beta$  es reemplazada por actividad en la banda  $\gamma$  (30-70Hz) (Schiffelen et al., 2005). La actividad  $\gamma$  se ha asociado al procesamiento de información entrante en regiones sensoriales (Kay y Beshel, 2010). También

se ha observado que la actividad  $\gamma$  estriatal predomina en etapas iniciales del aprendizaje y es gradualmente reemplazada por  $\beta$  (Howe et al., 2011). En contraste con  $\beta$ , la actividad  $\gamma$  parece ser más localizada, involucrando a regiones pequeñas (Kalenscher et al., 2010; Howe et al., 2011). A partir de esto, se sugiere que  $\gamma$  se asocia a la integración de información entrante, y que la reducida extensión espacial se debe a que el procesamiento ocurre en circuitos que no están funcionalmente asociados en ese momento (Howe et al., 2011; Leventhal et al., 2012).

Con base en lo anterior, se ha propuesto la hipótesis de que la actividad  $\beta$  sirve como un mecanismo de comunicación entre regiones cerebrales distantes que se asocia a procesos endógenos (*top-down*), mientras que la actividad  $\gamma$  local se asocia al procesamiento e integración de información sensorial (*bottom-up*) (Engel y Fries, 2010). De este modo, diferentes frecuencias de actividad oscilatoria representan diferentes estados funcionales de un circuito.

En el presente trabajo, registramos la actividad oscilatoria en el putamen de monos durante la ejecución de una tarea de Sincronización-Continuación, que ha sido ampliamente utilizada en la investigación de la cuantificación del tiempo. Esta tarea requiere la producción de una secuencia de movimientos temporalizados en dos contextos distintos: primero en un contexto guiado por estímulos sensoriales separados por intervalos isocrónicos (sincronización) y después en un contexto en el que la producción de movimientos es guiada de manera endógena (continuación). Se espera que la actividad oscilatoria se asocie a la estructura temporal y secuencial de la tarea, y que el cambio de contexto se vea reflejado en cambios en los parámetros espectrales (frecuencia y amplitud) de las oscilaciones.

# Parte 2. Antecedentes

---

## 2.1. Órdenes de magnitud de intervalos de tiempo y conductas relacionadas.

El sistema nervioso procesa información temporal con duraciones que van desde los microsegundos hasta los días a través de al menos 10 órdenes de magnitud con diferentes niveles de precisión. Por ejemplo, existen conductas que se sincronizan a eventos geofísicos periódicos: los ritmos circadianos se sincronizan a los ciclos luz/oscuridad u otros eventos altamente predecibles con periodos cercanos a 24 horas. Por otro lado, otros procesos conductuales no se sincronizan a eventos periódicos, sino que son requeridos para cuantificar la duración de eventos comparativamente cortos y que inician y terminan en momentos arbitrarios. Por ejemplo, la duración de una pausa en una frase es determinante para su significado.

Se ha propuesto que, para manejar información temporal de diferentes órdenes de magnitud, los organismos han desarrollado sistemas independientes (Figura 2.1). Por ejemplo, se ha mostrado que el sistema que permite cuantificar la duración de intervalos cortos es independiente del sistema que permite la sincronización de los ritmos circadianos. Con base en el conocimiento de los mecanismos que subyacen a la cuantificación temporal y las conductas asociadas a diferentes órdenes de magnitud, se ha propuesto una división en 4 escalas (Mauk y Buonomano, 2004):

- a) Sistemas circadianos. Operan en intervalos cercanos a 24 horas. En esta escala se organizan procesos de adaptación a cambios ambientales periódicos, como el ciclo luz/oscuridad tanto a nivel bioquímico (Fanjul-Moles et al., 2009) como conductual (Moore-Ede, Sulzman y Fuller 1982). El mecanismo subyacente a la cuantificación del tiempo en esta escala se basa en ciclos autolimitados de expresión genética que presentan una alta estabilidad, lo que resulta en una muy baja variación de los intervalos que produce el mecanismo “reloj” (Young, 2000).
- b) Cuantificación de intervalos de segundos/minutos. Ocurre la estimación de duraciones dependiente de control cognitivo (no automático) y que puede ser verbalizada. La cuantificación del tiempo en esta escala es altamente influenciada por la atención. Aquí es donde se construye la noción de continuidad y flujo temporal. El límite inferior de esta

escala es aún motivo de controversia, aunque se asume que intervalos mayores a 1.8s pertenecen a ella (Grondin, 2012).

- c) Cuantificación de intervalos de decenas/cientos de milisegundos. Estimación de duraciones de manera automática e involuntaria (de manera similar a procesos de percepción). Las referencias temporales para el reconocimiento del lenguaje, la apreciación y ejecución musical, así como la coordinación de movimientos finos, se encuentran en esta escala (Mauk y Buonomano, 2004). Por ejemplo, la duración de las pausas entre frases presenta una distribución con picos alrededor de los 400ms y 1200ms (Fant y Kruckenberg, 1996).
- d) Microsegundos. En esta escala ocurre la ubicación del origen del sonido, utilizando como base de cómputo la diferencia de tiempo con la que un sonido alcanza un oído con respecto al otro. El mecanismo asociado a esto se basa en retardos en la conducción axonal y se ubica en los complejos olivares superiores. También en esta escala ocurre la conducta de ecolocación, en la que un organismo (p.e. murciélagos y delfines) mide el tiempo que separa la emisión y la detección del eco de un sonido de alta frecuencia para determinar su ubicación espacial.

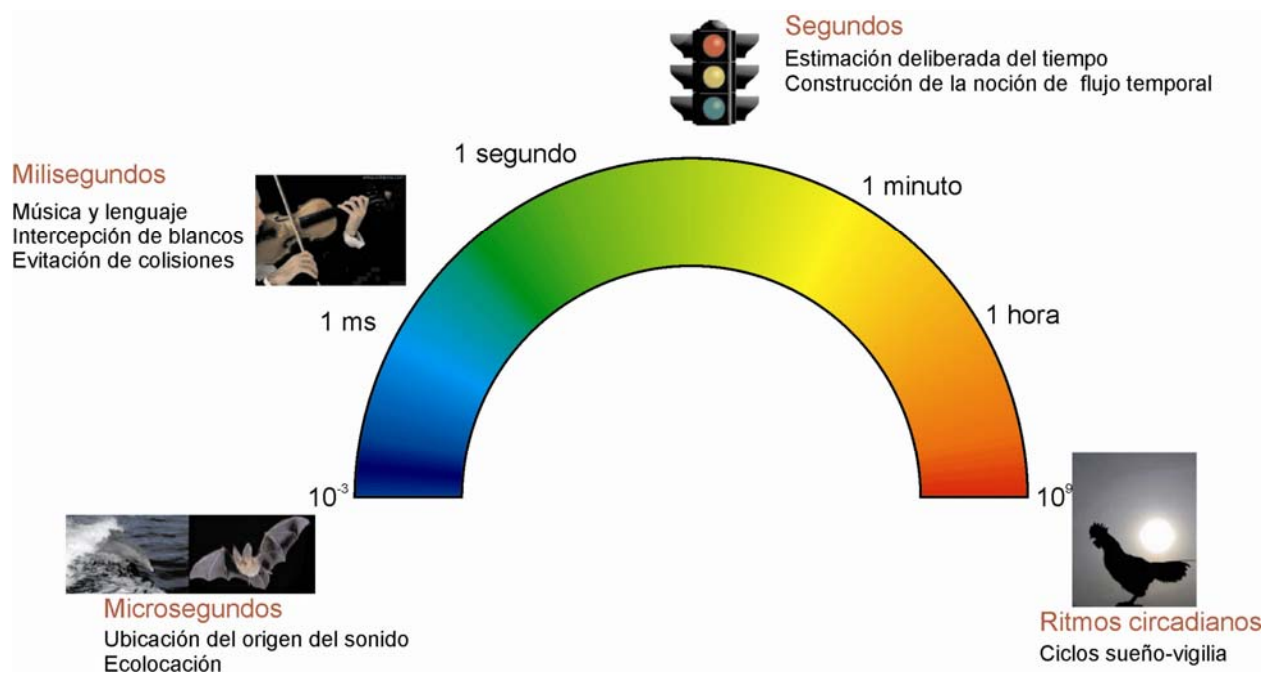
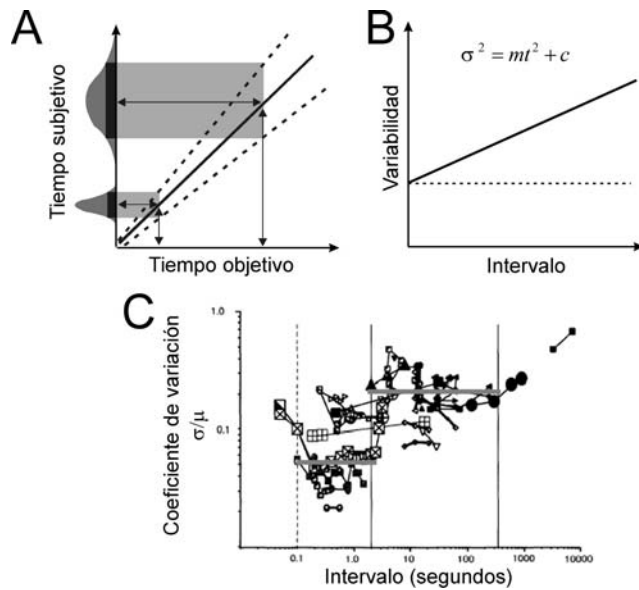


Figura 2.1. Órdenes de magnitud de intervalos de tiempo.

Las diferencias anatómicas y funcionales entre el procesamiento de intervalos en la escala de los milisegundos y de los segundos/minutos merece una mención aparte. Existen estudios que sugieren que el procesamiento de información temporal en la escala de los milisegundos se lleva a cabo en el cerebelo (Zelaznik et al., 2002), mientras que el procesamiento en la escala de los segundos es dependiente de los ganglios de la base (Buhusi y Meck, 2005). Sin embargo, estudios recientes han mostrado que esta segregación anatómica es, al menos, incompleta, ya que en pacientes con enfermedad de Parkinson la cuantificación de intervalos de cientos de milisegundos se encuentra alterada (Merchant et al., 2008a). Además, registros electrofisiológicos en regiones de la corteza cerebral que forman parte del circuito premotor de los ganglios basales (área motora suplementaria) han mostrado actividad neuronal asociada a la duración de intervalos de cientos de milisegundos (Merchant et al., 2011, 2013b). Por otra parte, el límite entre ambas escalas ha sido también motivo de debate. En la siguiente sección se aborda con mayor detalle esta última cuestión. Cualquiera que sea el caso, en el presente trabajo nos concentramos en la escala de los cientos de milisegundos, ya que en procesos que involucran la coordinación motora predominan duraciones dentro de esta escala.

## **2.2. Estudios de psicofísica e inferencias sobre los mecanismos subyacentes al procesamiento de información temporal.**

La mayor cantidad de información que se tiene sobre la organización del sistema de procesamiento de información temporal proviene de estudios de *psicofísica*. La psicofísica es una disciplina que trata de establecer relaciones cuantitativas entre la magnitud física de un estímulo sensorial, y la experiencia subjetiva que ocurre en un sujeto en respuesta a ese estímulo (Gescheider, 1997). Así, en los estudios de psicofísica se controla de manera precisa y sistemática la magnitud física estudiada (p. e. intensidad del sonido, fuerza, frecuencia de un sonido, duraciones, etc.) y con base en los resultados se pueden generar modelos que describen el comportamiento de un sistema de *caja negra*, el cerebro, en un intento de explicar de manera indirecta su funcionamiento.



**Figura 2.2.** Propiedad escalar. **A.** Las respuestas de un participante en tareas temporales presentan una distribución normal, y su variabilidad se incrementa en función del tiempo objetivo (físico). **B.** La variabilidad y el tiempo físico tienen una relación lineal. El modelo de *análisis de pendiente* se basa en esta propiedad y utiliza a la varianza como variable dependiente y al cuadrado del intervalo como variable independiente. **C.** La variabilidad, expresada como coeficiente de variación, presenta valores constantes en la escala de los cientos de milisegundos, y su valor es distinto en la escala de los segundos y minutos. Panel C modificado de (Gibbon et al., 1997).

Se han usado dos tipos básicos de procedimientos conductuales en experimentos de psicofísica para investigar la medición de intervalos temporales en el rango de los milisegundos y los segundos, tanto en humanos como en otras especies: tareas de percepción y tareas de producción de intervalos temporales. Los datos obtenidos a partir de esos estudios reflejan una propiedad intrínseca al procesamiento temporal: las respuestas de un sujeto en una tarea de producción o percepción de intervalos siguen una distribución normal alrededor del intervalo a medir, y la dispersión de la distribución es proporcional a la duración de dicho intervalo (Figura 2.2A,B), a esto se le llama “propiedad escalar” (Gibbon et al., 1997; Buhusi y Meck, 2005). Como consecuencia, el coeficiente de variación (proporción entre la desviación estándar y la media de la distribución) será constante. La constancia del coeficiente de variación se mantiene en intervalos que van de 200ms hasta ~1000ms (Mauk y Buonomano, 2004), en intervalos más largos el coeficiente de variación cambia (Figura 2.2C). Esto se ha interpretado como evidencia de la existencia de un mecanismo dedicado al procesamiento temporal en el rango de los cientos de milisegundos, que es distinto al que opera cuando se cuantifican intervalos de más de 2 segundos de duración. Además, dicho mecanismo de procesamiento temporal sería común a la producción y a la percepción de intervalos de cientos de milisegundos (Keele et al., 1985; Ivry, 1996). Cabe mencionar que se ha propuesto un modelo para el mecanismo de procesamiento temporal, y que sus componentes (reloj, memoria y toma de decisión) han tratado de aislarse



utilizando diferentes enfoques experimentales, como se describe a lo largo de esta sección y la sección **2.3. Correlatos neurales del procesamiento de información temporal**.

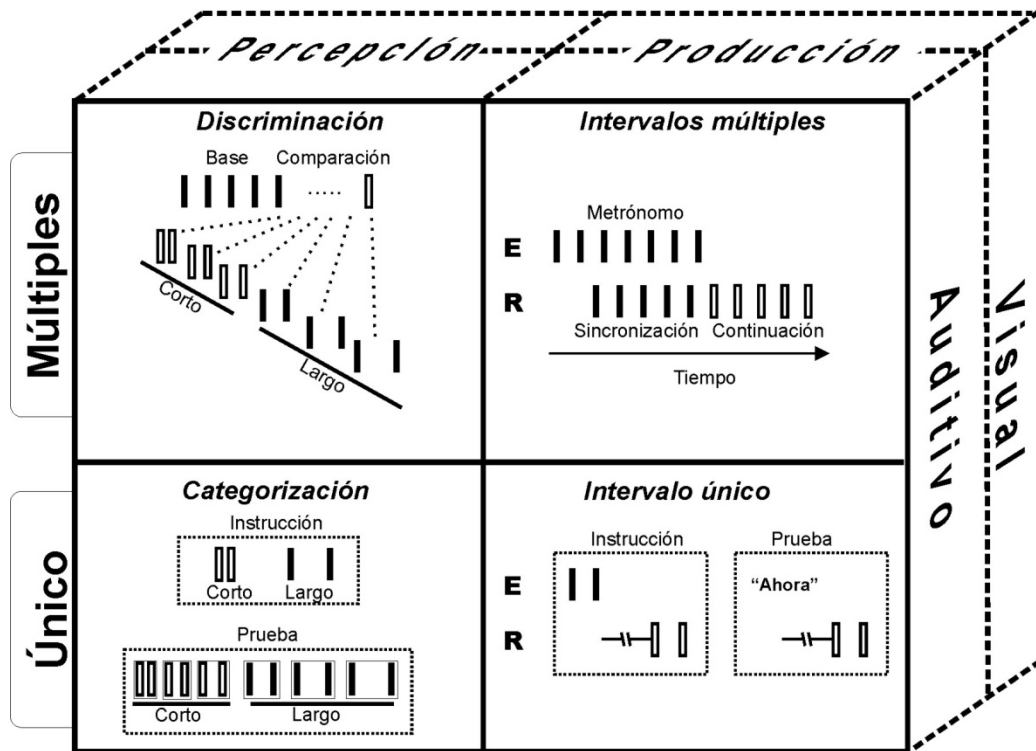
Sobre la base de la posible existencia de un mecanismo común, se han utilizado diferentes herramientas metodológicas para analizar los mecanismos de medición del tiempo. Estos métodos utilizan la variabilidad de la ejecución en tareas que involucran la temporalización de la conducta, a nivel motor o de percepción. Dado que la variabilidad de la conducta se incrementa en función del intervalo a medir, se deduce que la variabilidad de la ejecución refleja el funcionamiento del mecanismo de cuantificación temporal.

Se ha propuesto que la variabilidad en la ejecución que se observa en tareas que implican tiempo se puede descomponer en 1) un componente dependiente de la duración del intervalo que refleja el funcionamiento del reloj; y 2) componente independiente de la duración que refleja la implementación de procesos periféricos como la detección de los estímulos, la planeación de la respuesta motora, etc. (Ivry y Hazeltine, 1995). En este contexto, una manera de capturar de manera directa el componente dependiente de la duración consiste en hacer una regresión lineal de la varianza de las respuestas contra el cuadrado de los intervalos de prueba (Figura 2.2B). La constante representa, en este modelo, a los procesos independientes del tiempo y la pendiente de la regresión representa a la variabilidad derivada de los elementos dependientes del tiempo (Gibbon et al., 1997), es decir, al mecanismo de procesamiento temporal. Este método de análisis es llamado “*análisis de pendiente*”, y ha sido utilizado en combinación con otros enfoques para el estudio de los mecanismos subyacentes al procesamiento de la información temporal.

### *2.2.1. Comparación de la conducta temporal en múltiples contextos*

Nuestro grupo ha abordado la cuestión de la existencia de un mecanismo común para el procesamiento de información temporal (Merchant et al., 2008c). Se evaluó el desempeño de participantes humanos en 4 diferentes tareas (Figura 2.3). En estas tareas, el contexto conductual variaba de manera sistemática, de modo que una tarea que requería la producción de movimientos temporalizados se consideraba como una tarea motora, mientras que una tarea que requería una respuesta no temporalizada, pero basada en información temporal, se consideró como una tarea de percepción. Otro factor fue el número de intervalos, teniendo tareas en las que

se tenía que cuantificar un intervalo único, mientras que en otras se debían cuantificar múltiples intervalos isocrónicos. En todas las tareas, los sujetos debían temporalizar intervalos de entre 350 y 1000ms. Finalmente, otro factor fue la modalidad sensorial de los estímulos utilizados para delimitar los intervalos, que podían ser estímulos auditivos o visuales.



**Figura 2.3.** Tareas de cuantificación temporal. En el diagrama se dividen en columnas con base en la distinción percepción vs producción, y en filas con base en el número de intervalos que se involucran. E=estímulos, R=respuestas. Modificado de (Merchant et al., 2008c).

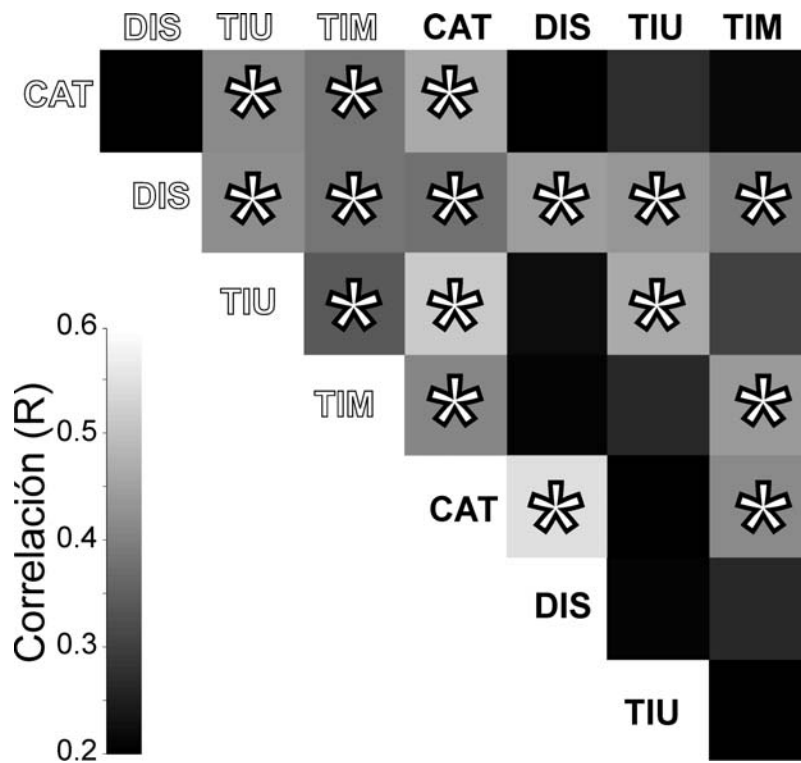
De este modo, el diseño incluye 2 tareas de percepción. 1) tarea de Discriminación de Intervalos (DIS), en la que se presentó a los sujetos una serie de 5 estímulos que delimitaban 4 intervalos isocrónicos de referencia. Un 6º estímulo delimitaba un 5º intervalo, diferente del intervalo de referencia, y los sujetos debían responder si este intervalo de comparación había sido mayor o menor que el de referencia presionando uno de dos botones. 2) tarea de Categorización de intervalos (CAT), que tenía 2 fases, una fase de entrenamiento, en la que 2 intervalos diferentes se presentaban a los sujetos, uno corto y uno largo. Después de 20 ensayos, iniciaba la fase de prueba, en la que 6 intervalos intermedios se le presentaban a los sujetos, debiendo responder si

cada intervalo presentado había sido corto o largo, con base en los prototipos presentados en la fase de entrenamiento.

Las 2 tareas restantes fueron tareas consideradas de producción. 3) Tarea de Intervalos Múltiples (TIM) que consistía en presionar un botón rítmicamente. En una primera fase, de sincronización, los sujetos debían presionar el botón guiados por una serie de estímulos isocrónicos; una vez que el participante completaba 4 intervalos los estímulos dejaban de presentarse, dando inicio a la fase de continuación, en la que el participante debía continuar presionando el botón con la misma temporalidad para producir 4 intervalos más. 4) Tarea de Intervalo Único (TIU), que consta de ensayos que pertenecen a una de dos fases: primero hay una fase de entrenamiento, en la que en cada ensayo se presenta un par de estímulos que delimitan un intervalo. El sujeto debe reproducir el intervalo presionando dos veces un botón. Después de un número determinado de ensayos de entrenamiento, inicia una fase de prueba, en la que no se presenta más el intervalo, sino que en cada ensayo el sujeto debe reproducir el intervalo previamente aprendido en respuesta a la presentación de un único estímulo.

El primer hallazgo de este estudio fue que se presenta la propiedad escalar en todas las tareas. Sin embargo, a simple vista se observan diferencias entre tareas y modalidades. La pregunta obligada es, si estas diferencias entre tareas surgen de la operación de diferentes mecanismos de cuantificación temporal, o de las características inherentes de cada tarea/modalidad. En psicología experimental, se han utilizado diferentes estrategias para abordar esta pregunta, entre las que encontramos el método de Wing-Kristofferson, y el Análisis de Pendiente. Ambos métodos tratan de aislar la variabilidad que se origina en el procesamiento temporal de la variabilidad total presente en las respuestas. Dejaré de lado el método de Wing-Kristofferson (Wing y Kristofferson, 1973), ya que su implementación requiere que la tarea involucre la ejecución de un número grande de intervalos producidos secuencialmente. El Análisis de Pendiente supone también que la variabilidad total de las respuestas de un sujeto se puede descomponer en dos componentes, variabilidad dependiente del tiempo y variabilidad independiente del tiempo. Implementa un modelo de regresión lineal, en el que la variable independiente es el cuadrado del intervalo de prueba, y la variable dependiente es la varianza de las respuestas. En el modelo lineal, la variabilidad dependiente del tiempo es capturada por la pendiente, mientras que la variabilidad independiente del tiempo (relacionada con procesos

sensorio-motora y por lo tanto constante) es capturada por el intercepto. Al comparar las pendientes de las diferentes tareas observamos que, en general, las tareas de percepción, visuales y con un solo intervalo presentan pendientes significativamente mayores que las tareas de producción, auditivas y con múltiples intervalos. Estos resultados pueden interpretarse de dos maneras: 1) para cada tarea y modalidad existe un mecanismo distinto para cuantificar el tiempo, o 2) existe un mecanismo común que se modula en función de la tarea.



**Figura 2.4.** Correlación de la variabilidad de las respuestas en diferentes tareas. El tono de gris representa el coeficiente de correlación de Pearson. Los asteriscos indican correlaciones significativas ( $P < 0.05$ ). El color de la fuente indica si se utilizaron estímulos auditivos (blanco) o visuales (negro) para delimitar los intervalos en cada tarea. DIS – discriminación, TIU – tarea de intervalo único, CAT – categorización, TIM – tarea de intervalos múltiples. Modificado de (Merchant et al., 2008c).

Si existiese un mecanismo común para la cuantificación de intervalos en múltiples contextos, se esperaría que un sujeto que es bueno para temporalizar en una tarea también lo fuese en otras tareas, de modo que la variabilidad en las respuestas en una tarea estaría correlacionada con la variabilidad de las respuestas en otra tarea. Siguiendo este razonamiento, se llevó a cabo un análisis de correlación de la variabilidad de las respuestas entre las diferentes tareas. Este análisis reveló un patrón complejo de correlaciones (Figura 2.4), que no puede ser interpretado como evidencia de múltiples mecanismos de cuantificación temporal, ni tampoco como evidencia de la

existencia de un mecanismo único. Más bien, sugiere la existencia de mecanismos que se activarían de manera diferencial en diferentes contextos, sin embargo, estos mecanismos no estarían completamente segregados, sino que presentarían un grado importante de traslape entre ellos, en concordancia con lo observado en estudios de neuroimagen funcional (ver sección 2.3).

### *2.2.2. Aprendizaje en la cuantificación del tiempo*

Otra cuestión importante en el problema del procesamiento temporal es la existencia de mecanismos específicos para procesar diferentes duraciones. En el nivel de órdenes de magnitud, como se mencionó al inicio de esta sección, es más o menos clara una división de la escala de los milisegundos y la de los segundos (Grondin, 2012). Sin embargo, dentro de la escala de cientos de milisegundos la pregunta de si un mismo mecanismo procesa todas las duraciones sigue siendo controversial. El estudio de las propiedades del aprendizaje derivado de un entrenamiento en condiciones específicas, y de los patrones de transferencia del aprendizaje hacia condiciones que no fueron entrenadas, puede proveer información importante sobre la organización de los mecanismos neuronales asociados a la tarea que se aprende.

La lógica del enfoque de aprendizaje/transferencia se puede ilustrar de la siguiente manera: imaginemos una red neuronal cuya función sea discriminar un tono de gris específico (50%-negro) de un gradiente de tonos de grises de 10%-negro a 100%-negro, produciendo una respuesta categórica cada vez que se le presenta un estímulo 50%-negro. Supongamos que esta red puede resolver el problema al inicio con un determinado nivel de precisión, respondiendo de manera incorrecta en algunos ensayos. Podemos entrenar esta red, y producir un incremento en el nivel de precisión para discriminar el estímulo 50%-negro, promoviendo cambios en la dinámica de la red cada vez que se produzca una respuesta incorrecta y reforzando las respuestas correctas. Después del entrenamiento podremos evaluar el desempeño de la red tanto para el estímulo entrenado, 50%-negro, como para estímulos no entrenados. Esta estrategia permite probar si ocurren modificaciones en la manera en la que se procesan los tonos de gris no entrenados, si al mejorar la discriminación de un tono de gris específico, observamos una mejoría en la discriminación de otros tonos, esto sugeriría un traslape funcional en la respuesta de la red a estímulos entrenados y no entrenados.

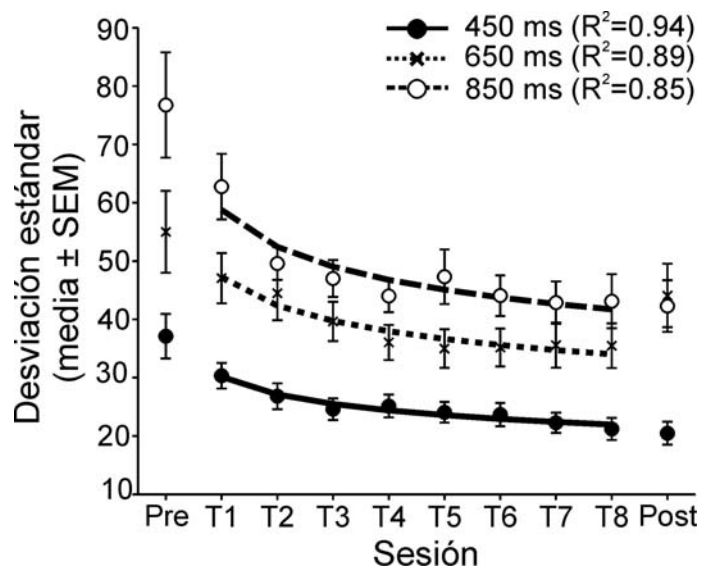
Estudios de este tipo han arrojado evidencia importante sobre esta cuestión. En principio, podemos afirmar que el procesamiento temporal puede ser entrenado y podemos medir el aprendizaje. Además, a partir de estos estudios se ha sugerido que diferentes duraciones son procesadas por mecanismos específicos para dicha duración (Kristofferson, 1980; Collyer et al., 1994). Por ejemplo, en un estudio se pidió a los participantes que discriminaran una serie de intervalos de prueba de un intervalo base, para determinar el umbral de discriminación, delimitando los intervalos con un par de estímulos auditivos cortos de una frecuencia específica (Wright et al., 1997). Se observó que el umbral de discriminación disminuyó con el entrenamiento. Además, antes y después del entrenamiento se determinó el umbral de los participantes en condiciones diferentes de la entrenada, en las que cambiaba la frecuencia de los tonos que delimitaban el intervalo, o la duración del intervalo base. Se observó una disminución del umbral de discriminación cuando se cambiaba la frecuencia de los estímulos auditivos, sin embargo, esto no ocurrió cuando se modificó la duración del intervalo base. Resultados similares se han obtenido utilizando estímulos somatosensoriales para delimitar los intervalos (Nagarajan et al., 1998), ocurre transferencia del aprendizaje entre parches de piel ipsilaterales, al parche de piel correspondiente del lado contralateral, e incluso ocurre transferencia entre modalidades, observándose que el umbral también disminuye cuando los intervalos son delimitados por estímulos auditivos, condición que no fue entrenada, sin que ocurra transferencia hacia duraciones no entrenadas. Estos resultados sugieren que la información temporal es extraída de la información sensorial, y procesada de manera independiente. Además, revela la posible existencia de circuitos que procesan duraciones específicas.

De la mano con lo anterior, al entrenar a participantes en tareas de percepción (discriminación) y probar su desempeño en tareas motoras (Tarea de Intervalos Múltiples) antes y después del entrenamiento sensorial, se ha observado que la mejoría en la tarea de percepción se transfiere a la tarea motora específicamente para la duración que fue entrenada (Meegan et al., 2000; Planetta y Servos, 2008). Esto sugiere que los circuitos que procesan una duración específica son utilizados para cuantificar el tiempo en una tarea de percepción, y también para la producción de movimientos temporalizados. El problema con los estudios mencionados es que han utilizado solo unos pocos intervalos relativamente alejados entre sí (con una diferencia de más del 50%) de modo que su sensibilidad para detectar transferencia en el dominio de la duración del intervalo es baja.

En un estudio de nuestro grupo de trabajo (Bartolo y Merchant, 2009) se entrenó a participantes humanos sanos en una tarea de reproducción de intervalos de tiempo (Tarea de Intervalo Único – TIU) utilizando un intervalo específico, o intervalo base, delimitado por estímulos auditivos. Los participantes se dividieron en 3 grupos, y cada grupo entrenó un intervalo específico (450, 650 o 850 ms) completando 900 ensayos diarios durante 8 días consecutivos. Antes y después del entrenamiento se probó el desempeño de los sujetos en una serie de intervalos de prueba que variaban sistemáticamente su duración alrededor del intervalo base, incluyéndolo. Además, se probó también el desempeño de los sujetos utilizando estímulos visuales como delimitadores del intervalo. El primer hallazgo de nuestro estudio fue que los humanos presentan un proceso de aprendizaje en la producción de movimientos temporalizados, y este aprendizaje se manifiesta como una reducción gradual de la variabilidad de los intervalos producidos a través de las sesiones de entrenamiento (Figura 2.5). Las curvas de aprendizaje fueron caracterizadas ajustándoles un modelo de potencia:

$$SD = bT^m$$

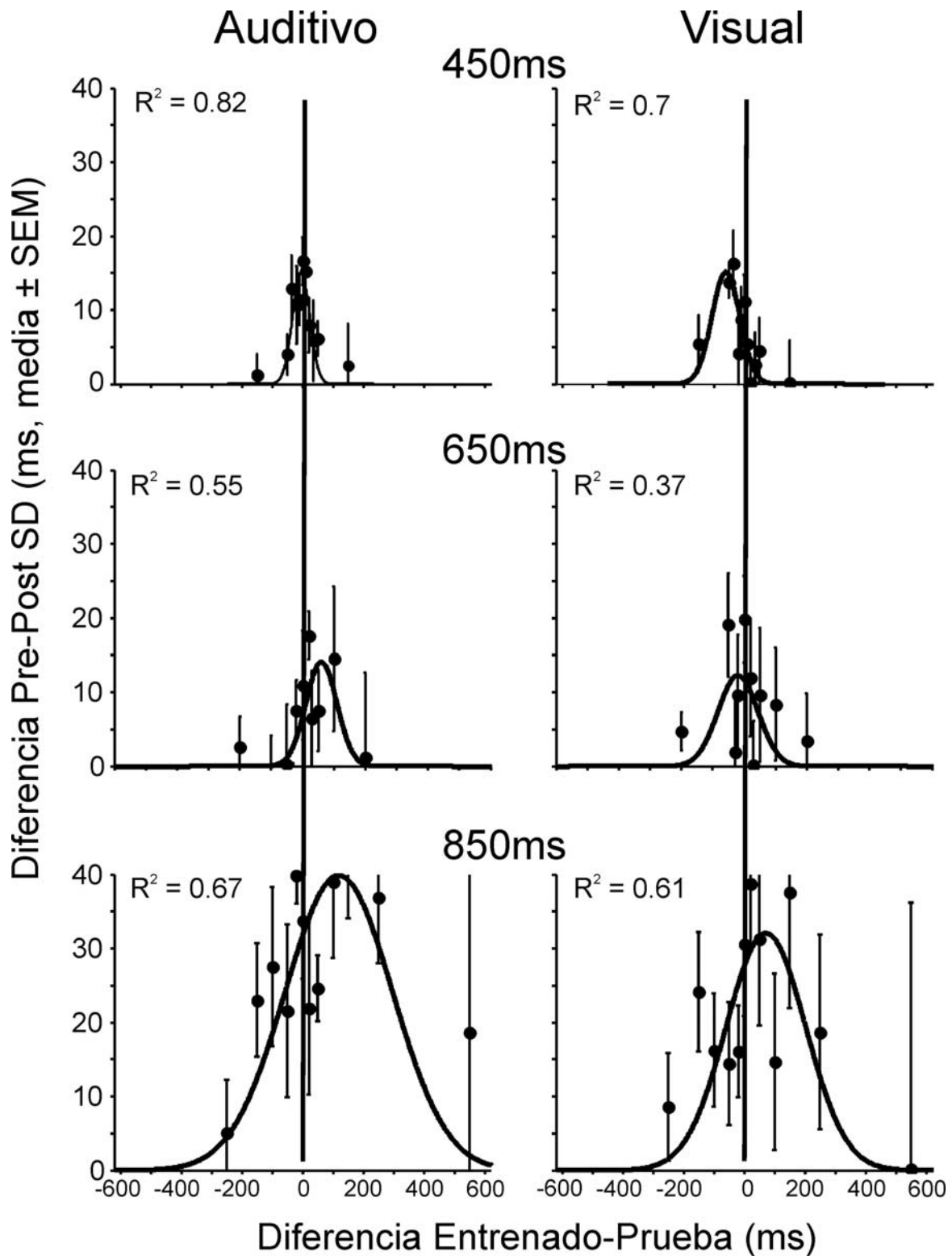
donde  $SD$  es la desviación estándar de los intervalos producidos,  $T$  es la duración del intervalo base,  $b$  es el valor inicial de la curva (intercepto) y  $m$  es la constante de tiempo (pendiente) de la curva de aprendizaje. Se encontró una diferencia significativa en el valor inicial de la curva, de acuerdo con la propiedad escalar. Sin embargo, no se encontró una diferencia significativa en la constante de tiempo, lo que sugiere que la cinética del aprendizaje es similar para los diferentes intervalos.



**Figura 2.5.** Cinética del aprendizaje en la tarea de Intervalo Único para 3 diferentes intervalos. Pre/Post se refiere a las pruebas Pre y Post entrenamiento. T1-T8 son las sesiones de entrenamiento. Las líneas corresponden al ajuste de los datos de las sesiones de entrenamiento a una función de potencia. Modificado de (Bartolo y Merchant, 2009).

El siguiente paso fue caracterizar la transferencia del aprendizaje hacia intervalos no entrenados, así como entre modalidades sensoriales. Se construyeron curvas, en las que se graficó la diferencia en la variabilidad Pre-entrenamiento (PreSD) y Post-entrenamiento (PostSD) en función de la duración del intervalo de prueba (Figura 2.6). Estas curvas se hicieron tanto para la modalidad auditiva (entrenada) como la visual (no entrenada). Para todos los intervalos base, se observa una clara transferencia del aprendizaje hacia intervalos no entrenados. Sin embargo, los patrones de transferencia difieren en función del intervalo entrenado. Para el intervalo base de 450ms, se encontró transferencia intensa (en términos de la diferencia PreSD – PostSD) solo hacia intervalos cercanos a 450ms, pero para el intervalo base de 850ms se encontró un patrón de transferencia más amplio hacia intervalos alejados de 850ms. Para el intervalo base de 650ms el patrón de transferencia fue mucho menos ordenado que para los otros dos casos, en el cual intervalos contiguos presentaron efectos inconsistentes. En concordancia con estudios previos, ocurrió transferencia del aprendizaje entre modalidades, encontrando reducciones significativas de la variabilidad en la modalidad visual. Los resultados de este estudio sugieren la existencia de circuitos sintonizados a diferentes duraciones, lo que posteriormente se demostró en estudios electrofisiológicos (Merchant et al., 2013b).





**Figura 2.6.** Curvas de transferencia del aprendizaje. Se grafica la diferencia de la SD entre las sesiones Pre- y Post-entrenamiento, en función de la diferencia del intervalo de prueba respecto al entrenamiento. Las curvas son ajustes a una función gaussiana. Modificado de (Bartolo y Merchant, 2009).

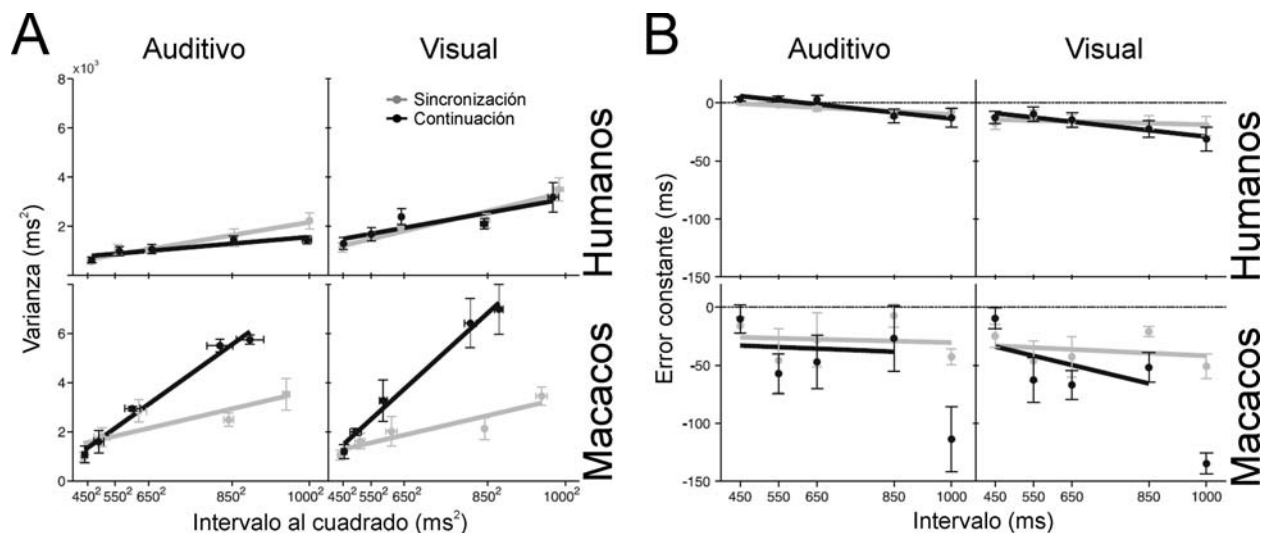
### 2.2.3. Conducta temporal en monos Rhesus (*Macaca mulatta*)

Como se ha visto, la mayor parte de la información disponible sobre el procesamiento de información temporal proviene de estudios en humanos o en roedores. Por esta razón, es importante determinar si los macacos son un buen modelo de estudio. Existen estudios previos de nuestro grupo de trabajo que buscan resolver esta cuestión.

En uno de ellos (Zarco et al., 2009), se utilizaron dos paradigmas conductuales: la tarea de intervalos múltiples (TIM) y la tarea de intervalo único (TIU), que se han descrito anteriormente, utilizando tanto estímulos visuales como auditivos de manera separada. Se comparó el desempeño de participantes humanos con el de macacos. La conducta de los macacos se analizó una vez que alcanzaron un nivel asintótico en su curva de aprendizaje, manteniéndose estable con más del 70% de ensayos correctos diariamente en todas las tareas. Detalles del entrenamiento de los monos pueden encontrarse en (Zarco Castro, 2011). En ambas tareas, la conducta de los monos sigue la propiedad escalar, al igual que ocurre en los humanos, de modo que la variabilidad se incrementa en función de la duración del intervalo a producir. Se utilizó el *análisis de pendiente* para descomponer la variabilidad en los componentes: 1) duración-dependiente (pendiente) y 2) duración-independiente (intercepto).

La variabilidad dependiente del tiempo resultó ser similar entre ambas especies durante la fase de sincronización, sin embargo, la diferencia es clara entre especies durante la fase de continuación, con una pendiente más pronunciada en los monos en comparación con los humanos. El Error Constante es una medida de la precisión en la producción de intervalos, y se define como la diferencia del intervalo producido menos el intervalo blanco. Se encontró que tanto humanos como macacos presentan valores negativos del error constante, pero en los humanos su valor se acercó más a cero que en los monos, sin diferencias claras entre modalidades sensoriales. Una diferencia importante entre humanos y macacos es que las asincronías, es decir, el tiempo que pasa entre la presentación del estímulo y la respuesta, son mayores para los monos (~270ms) en comparación con los humanos (~4ms). Aunque las asincronías nunca se utilizaron como un criterio para validar o invalidar los ensayos, los humanos presentaron una clara tendencia a producir los movimientos en fase con los estímulos, presentando valores de asincronía cercanos a cero. En contraste, en la Tarea de Intervalo Único (TIU), la variabilidad de los intervalos producidos tuvo un comportamiento similar entre ambas especies. De hecho, no se encontró una

diferencia significativa en el componente dependiente del tiempo (pendiente) en función de la modalidad sensorial, ni de la especie. Estos resultados, en conjunto, sugieren que humanos y monos utilizan mecanismos similares para cuantificar el tiempo; no obstante, emerge una diferencia clara al incrementar el número de intervalos que el sujeto produce en cada ensayo. Esto sugiere que ambas especies emplean mecanismos similares para cuantificar el tiempo, pero que los humanos poseen una ventaja para la producción de secuencias de movimientos rítmicos.



**Figura 2.7.** Comparación de la conducta temporalizada entre humanos y macacos. **A.** Variabilidad (varianza) de los intervalos producidos en función del intervalo blanco (al cuadrado). **B.** Error constante de los intervalos producidos en función del intervalo blanco. En ambos casos se separaron los datos de la fase de sincronización de la tarea TIM de los de la fase de continuación. Modificado de (Zarco et al., 2009).

Se ha hecho una distinción entre la temporalización explícita, en la que hay que ejecutar movimientos discretos en momentos precisos, de la temporalización implícita, en la cual el tiempo emerge de la producción de las propiedades cinemáticas de un movimiento continuo y no de un mecanismo de *reloj* (Zelaznik et al., 2002; Merchant et al., 2008b). La temporalización explícita implica, por ejemplo, el cuantificar la duración de las pausas entre movimientos en la tarea TIM. Existe la posibilidad de que los macacos produzcan intervalos de diferentes duraciones planeando movimientos cuya duración varía en función del intervalo blanco, en cuyo caso estaríamos hablando de temporalización implícita. Nuestro grupo de trabajo realizó un estudio en el que se analizó la cinemática de los movimientos de los macacos en la TIM (Donnet et al., 2014). Se encontró que la varianza de las duraciones de las pausas entre los movimientos se incrementa de manera lineal en función del intervalo blanco, siguiendo la propiedad escalar. Por

otro lado, la varianza de la duración de los movimientos no siguió la propiedad escalar. Tampoco se encontraron diferencias en la velocidad de los movimientos en función de la duración del intervalo. Esto permite concluir que los monos Rhesus realizan movimientos cortos y estereotipados, y por lo tanto, resuelven la tarea controlando la duración de las pausas, de modo que están utilizando un mecanismo de temporalización explícita.

### **2.3. Correlatos neurales del procesamiento de información temporal.**

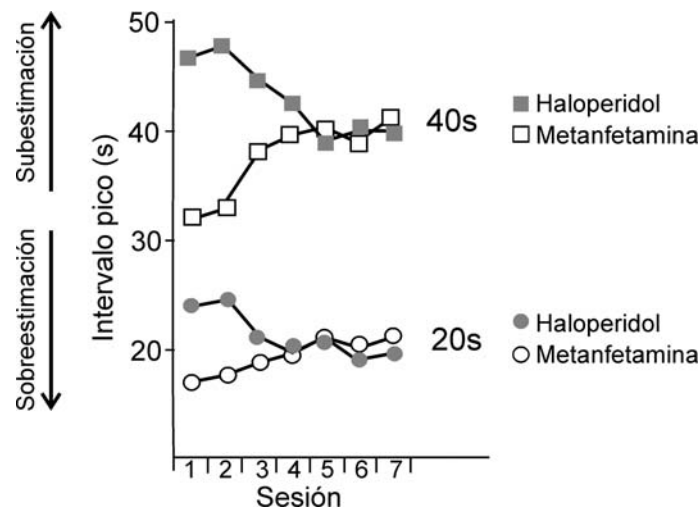
Se han utilizado diferentes estrategias experimentales en un intento de dilucidar el sustrato neural del procesamiento de información temporal. Podemos agrupar la evidencia en 4 vertientes: 1) evidencia farmacológica, 2) evidencia de neuroimagen funcional, 3) estudios en lesiones y enfermedades neurodegenerativas y 4) registros electrofisiológicos.

#### *2.3.1. Evidencia farmacológica*

La administración de fármacos ha permitido observar el efecto que tienen en la ejecución de tareas que requieren del procesamiento de información temporal. En este tenor, se ha observado que las drogas dopaminérgicas y colinérgicas alteran el desempeño en tareas tanto de producción como de percepción de intervalos temporales (Rammsayer, 1999; Matell y Meck, 2004; Buhusi y Meck, 2005). En un estudio en roedores (Meck, 1996), se observó el efecto de la administración sistémica repetida fármacos que estimulan o inhiben la actividad de receptores dopaminérgicos (p.e. metanfetamina y haloperidol, respectivamente) en la ejecución de la tarea de intervalo pico. En esta tarea, se entrena a los animales para que presionen repetidamente una palanca después de que ha transcurrido un intervalo de tiempo específico, conocido como *intervalo fijo*, después de la aparición de una señal (p.e. el encendido de una luz) para recibir una recompensa. De esta manera, la tasa de activación de la palanca alcanza un máximo muy cerca del intervalo entrenado, el intervalo en el que se alcanza este máximo se conoce como *intervalo pico*. En esta tarea, el intervalo pico es un reflejo de la percepción del paso del tiempo. La respuesta inmediata a la administración del agonista dopaminérgico es un sesgo de las respuestas de un sujeto hacia intervalos más cortos que el estándar (Figura 2.8), de lo que se interpreta que el paso del tiempo

se percibe de manera acelerada, lo que conduce a una sobreestimación del tiempo transcurrido. Lo opuesto ocurre tras la administración aguda de antagonistas dopaminérgicos: se presenta un sesgo escalar de las respuestas hacia intervalos más largos que el estándar, siguiendo el mismo razonamiento, esto indicaría una subestimación del tiempo transcurrido. Si se administran drogas dopaminérgicas en varias sesiones, ocurre un ajuste gradual de las respuestas del sujeto y estas vuelven a ser precisas, lo que indica un proceso de plasticidad.

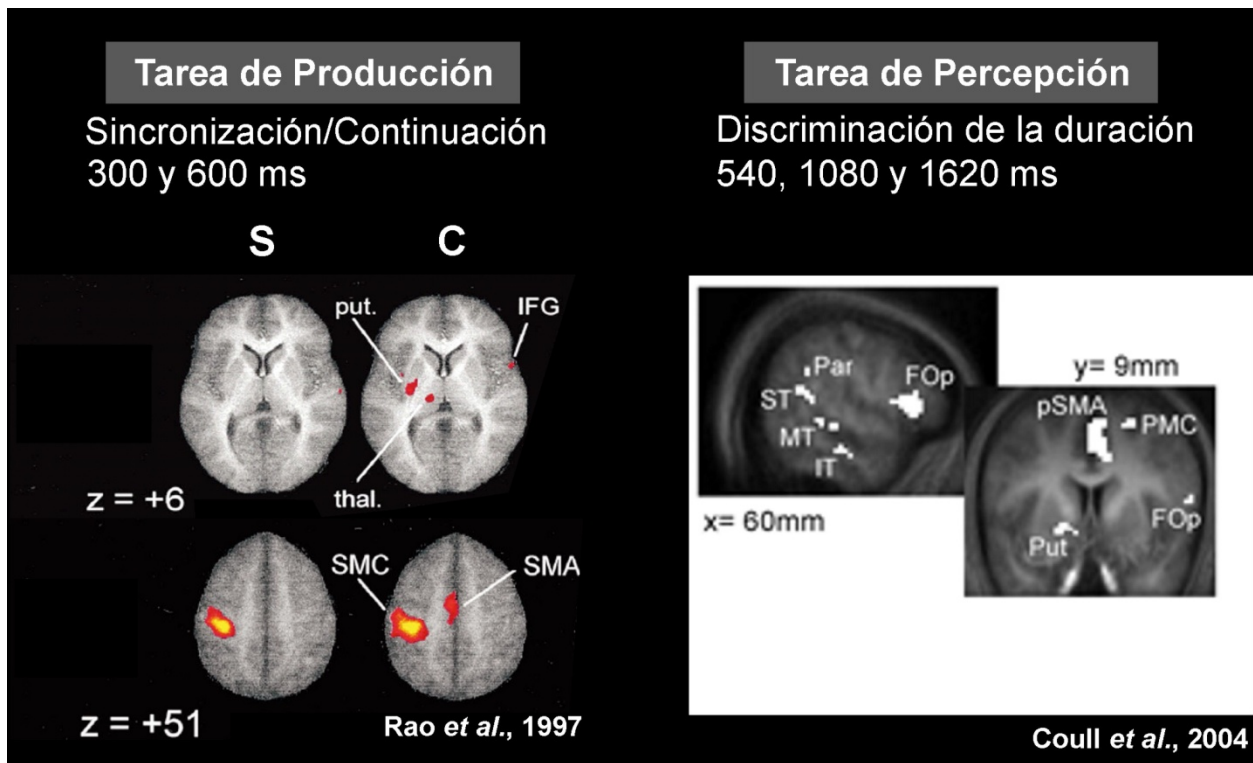
Estas alteraciones se explican suponiendo la existencia de un circuito marcapaso (o ‘reloj’ en el modelo construido a partir de datos conductuales) que emite pulsos con una determinada frecuencia, este circuito sería modulado por el sistema dopaminérgico, de modo que al incrementar los niveles de dopamina, la frecuencia de los pulsos de salida de este marcapaso, en consecuencia, incrementaría. Este tipo de manipulaciones farmacológicas, proporcionan información importante y sólida, pero muy gruesa sobre el procesamiento de información temporal, por lo que resulta necesario utilizar otros enfoques metodológicos para corroborar las inferencias que se pueden hacer a partir de ellas sobre el sustrato neural de un sistema de procesamiento de información temporal.



**Figura 2.8.** Subestimación y sobreestimación temporal en respuesta a la aplicación de drogas dopaminérgicas. Se presenta el *intervalo pico* en varias sesiones de administración de un agonista (metanfetamina) o un antagonista (haloperidol) dopaminérgico en dos grupos de animales, uno entrenado en un *intervalo fijo* de 40s y otro en 20s. El efecto agudo es un sesgo escalar del *intervalo pico* (proporcional a la duración del *intervalo fijo*) hacia intervalos más largos que el intervalo fijo, tras la aplicación del antagonista, o hacia intervalo más cortos, tras la aplicación del agonista. Esto se interpreta como una subestimación del tiempo transcurrido en respuesta al antagonista, y una sobreestimación del tiempo transcurrido ocasionada por el agonista. Estos efectos se atenúan gradualmente con la administración repetida de los fármacos, indicando un proceso de reajuste. Modificado de (Meck, 1996).

### 2.3.2. Evidencia de neuroimagen funcional

En los últimos años, se han utilizado técnicas de imagenología funcional para estudiar el problema del procesamiento de información temporal en el sistema nervioso central. En numerosos trabajos, consistentemente se ha observado la activación de estructuras cerebrales específicas en tareas tanto de percepción como de producción de intervalos temporales (Figura 2.9). Entre las estructuras que se activan en estas tareas están: el núcleo caudado, el putamen, la corteza prefrontal, las áreas premotora y motora suplementaria, y el cerebelo (Rao et al., 2001; Nenadic et al., 2003; Coull et al., 2004; Harrington et al., 2004).



**Figura 2.9.** Resonancia Magnética Funcional durante tareas de procesamiento temporal. Se observa que tanto en tareas de producción de movimientos temporalizados como en tareas de percepción de la duración ocurre un incremento en la señal BOLD en el putamen, el tálamo y el área motora suplementaria. **Panel izquierdo:** Imágenes en cortes axiales (Rao et al., 1997), en las que se indican las áreas con una activación significativa: Put-putamen, IFG-Giro frontal inferior, thal-tálamo, SMA-Área motora suplementaria, SMC-Corteza sensorimotora. **Panel derecho:** Imágenes en corte parasagital (izquierda) y coronal (derecha), en las que se indican las áreas con una activación significativa (Coull et al., 2004): Par-corteza parietal, ST-giro temporal superior, MT-giro temporal medio, IT-giro temporal inferior, pSMA-área motora presuplementaria, PMC-corteza premotora, FOp-opérculo frontal.

Por ejemplo, en un estudio de resonancia magnética funcional (fMRI) relacionada a evento, se encontró una activación diferencial de estructuras cerebrales en función de la etapa de procesamiento: el caudado, putamen y áreas promotoras dorsales para la codificación del intervalo (reloj), y la corteza prefrontal para la etapa de memoria/decisión (Rao et al., 2001). Se presentó a sujetos humanos un intervalo estándar delimitado por 2 marcadores auditivos seguido de una pausa de duración fija, y después de la pausa un segundo intervalo de comparación de duración distinta al estándar. Este diseño permitió relacionar la señal de resonancia magnética a etapas del procesamiento de información temporal. Una crítica a dicho trabajo es que el caudado está involucrado en la memoria de trabajo (Postle y D'Esposito, 1999), lo que haría pensar que la activación del caudado estaría relacionada con el mantenimiento de una referencia del intervalo a lo largo de diferentes ensayos. Esto fue abordado en otro estudio de fMRI (Harrington et al., 2004) en el que se cambiaba aleatoriamente el intervalo entre ensayos, y aun así se encontró actividad en el neocórtex asociada al procesamiento temporal.

Por otro lado, en otro estudio (Coull et al., 2004) se observó un incremento graduado, asociado a la carga de atención que se le daba al atributo “duración” del estímulo, de la actividad del área motora suplementaria (SMA) y corteza motora (hemisferio derecho), corteza temporal derecha, surco intraparietal (bilateral) y putamen. Estos incrementos graduales fueron consistentes con los resultados de las pruebas conductuales, una menor activación correspondía a un incremento en el porcentaje de errores.

Dada la gran cantidad de estudios de neuroimagen funcional existentes, ha sido posible realizar meta-análisis utilizando los datos de diferentes estudios. En uno de los primeros meta-análisis (Macar et al., 2002), se clasificó los estudios en perceptuales y rítmicos. Los autores concluyen que tanto el caudado y el putamen, el área motora suplementaria, el cerebelo, la corteza prefrontal dorsolateral, la corteza del cíngulo anterior y la corteza intraparietal derecha, se activan consistentemente en todas las tareas. En otro trabajo (Lewis y Miall, 2003) se consideraron tres factores para clasificar los datos: 1) intervalos mayores que 1 segundo vs intervalos menores que 1 segundo, 2) tareas perceptuales vs motoras y 3) respuesta motora continua vs discontinua. Sus resultados sugieren que para las tareas que están por debajo de 1s ocurre una activación bilateral del área motora suplementaria, corteza sensorimotora izquierda, los ganglios de la base, el tálamo, el cerebelo derecho, el giro temporal superior y la corteza

premotora dorsolateral. Para intervalos mayores a 1s, se activó el cerebelo izquierdo, además de la corteza prefrontal dorsolateral derecha y las cortezas parietales. Las estructuras que fueron consistentes entre todas las condiciones fueron: el área motora suplementaria y el cerebelo derecho. Estudios más recientes en los que se hacen meta-análisis (Meck et al., 2008; Wiener et al., 2010), enfatizan a los ganglios de la base como un elemento central del sistema de cuantificación temporal, que opera en diferentes contextos y escalas de tiempo.

Estos hallazgos, en conjunto, apoyan la idea de que el mecanismo de procesamiento de información temporal tiene componentes anatómica y funcionalmente segregados. También son congruentes con los hallazgos de las manipulaciones farmacológicas, ya que consistentemente se ha encontrado activación de los ganglios basales, en conjunción con regiones premotoras, en tareas que involucran la percepción o producción de intervalos temporales. Los resultados mencionados sugieren que los ganglios basales (específicamente el neostriado y las vías dopaminérgicas nigroestriatales) pueden actuar como un sistema marcapaso, mientras la corteza prefrontal (principalmente) haría la función de un sistema de memoria.

### *2.3.3. Estudios de lesiones y enfermedades neurodegenerativas*

En este punto, es fácil predecir que el procesamiento temporal se vería afectado si se lesionan los ganglios basales, la corteza prefrontal o el área motora suplementaria. De hecho esto ha sido estudiado en pacientes con enfermedades neurodegenerativas o lesiones que provocan disfunciones de las vías dopaminérgicas, como la enfermedad de Parkinson; o de las neuronas espinosas medianas del estriado, como la enfermedad de Huntington.

En pacientes con la enfermedad de Parkinson, se ha observado un incremento en la variabilidad de las respuestas en tareas de producción de intervalos temporales. Por otro lado, se ha observado la propiedad escalar en tareas de producción y percepción de intervalos temporales (en el rango de segundos a minutos) cuando se les prueba bajo medicación con precursores dopaminérgicos (L-DOPA), no obstante, la propiedad escalar no se observa cuando las pruebas se realizan sin medicación (Buhusi y Meck, 2005).



Se ha estudiado el desempeño de pacientes parkinsonianos en diferentes tareas de producción y percepción de intervalos temporales (Merchant et al., 2008a) bajo medicación (L-DOPA) y sin medicación, utilizando intervalos de cientos de milisegundos. Un grupo de sujetos presentó una variabilidad incrementada al ser probados sin medicación, no obstante, se conserva la propiedad escalar y al realizar las pruebas bajo medicación (L-DOPA) se encontraron patrones de variabilidad similares a los de sujetos control. Un análisis de pendiente reveló un incremento del valor de la pendiente (variabilidad dependiente del tiempo) en pacientes cuando se los probó sin medicación, en comparación con las pendientes estimadas bajo medicación, lo que sugiere que el incremento de la variabilidad se origina en parte en el sistema de procesamiento temporal y no es debido solamente a procesos periféricos como la implementación motora. Cabe mencionar que los pacientes no mostraron déficit sustancial en otras variables que podrían afectar su desempeño, como la atención o la memoria.

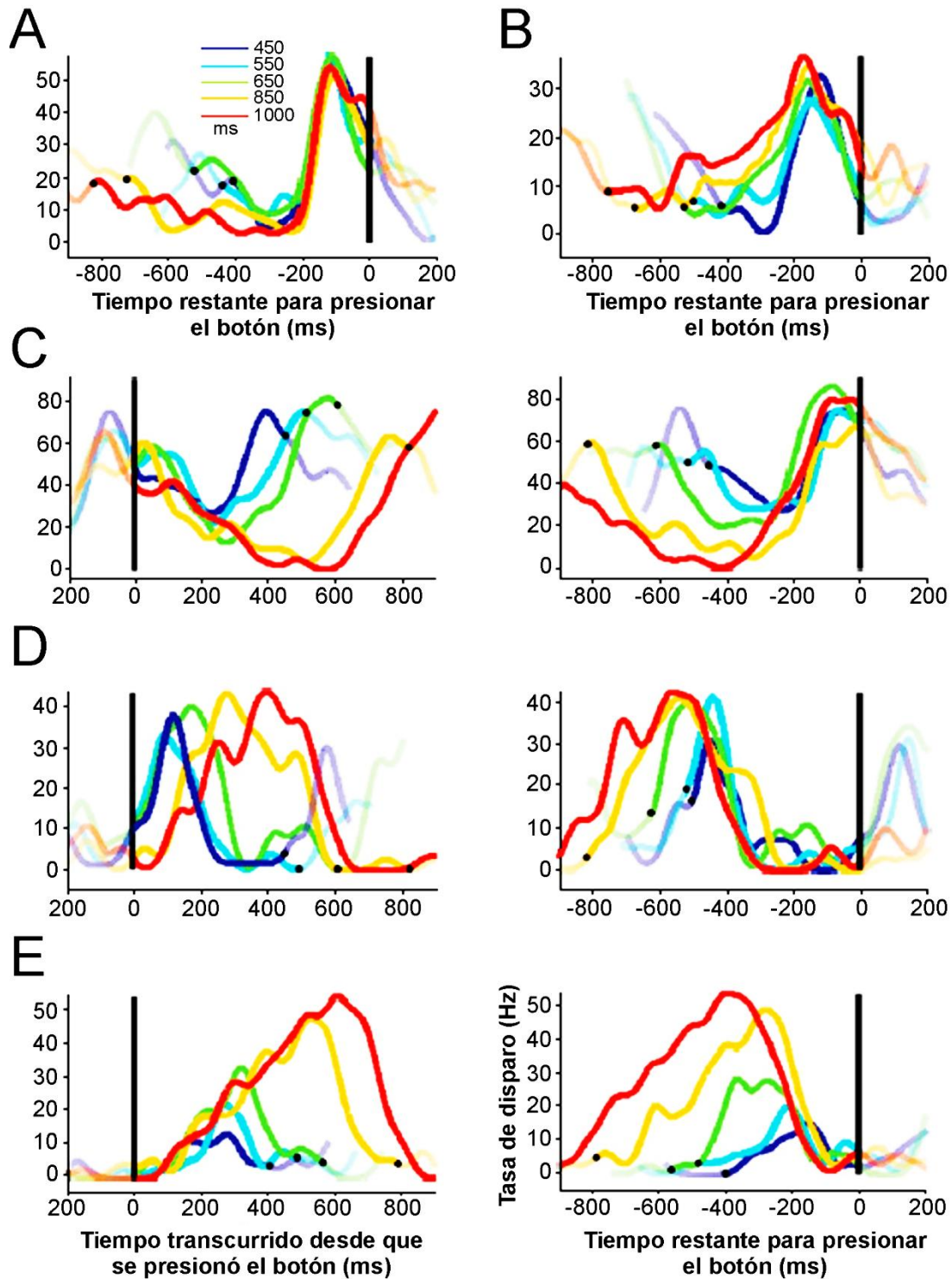
Por otro lado, en pacientes con enfermedad de Huntington se encontró que la variabilidad en la ejecución de tareas de percepción de intervalos se incrementa conforme los pacientes se acercan a la edad a la que se pronostica que presentarán el cuadro clínico de la enfermedad (Paulsen et al., 2004). Los resultados de resonancia magnética funcional que se presentan en ese trabajo indican que el déficit en la ejecución de la tarea se asocia a actividad disminuida del caudado-putamen, tálamo y área motora pre-suplementaria. Dado que la enfermedad de Huntington involucra una degeneración de neuronas estriatales, estos datos apuntan hacia la participación del estriado en el mecanismo de procesamiento de información temporal.

En general, los estudios en pacientes con lesiones y enfermedades que ocasionan un déficit motor, indican que la disfunción motora se origina parcialmente en una disfunción del procesamiento de información temporal. Se ha encontrado una segregación anatómica y funcional de las diferentes instancias del procesamiento de información temporal, no obstante, se ha observado que algunas estructuras, entre las que destacamos a los ganglios basales, se activan consistentemente en diferentes tareas de cuantificación de intervalos de tiempo aun cuando se utilizan diferentes tipos de estímulos para delimitar las duraciones.

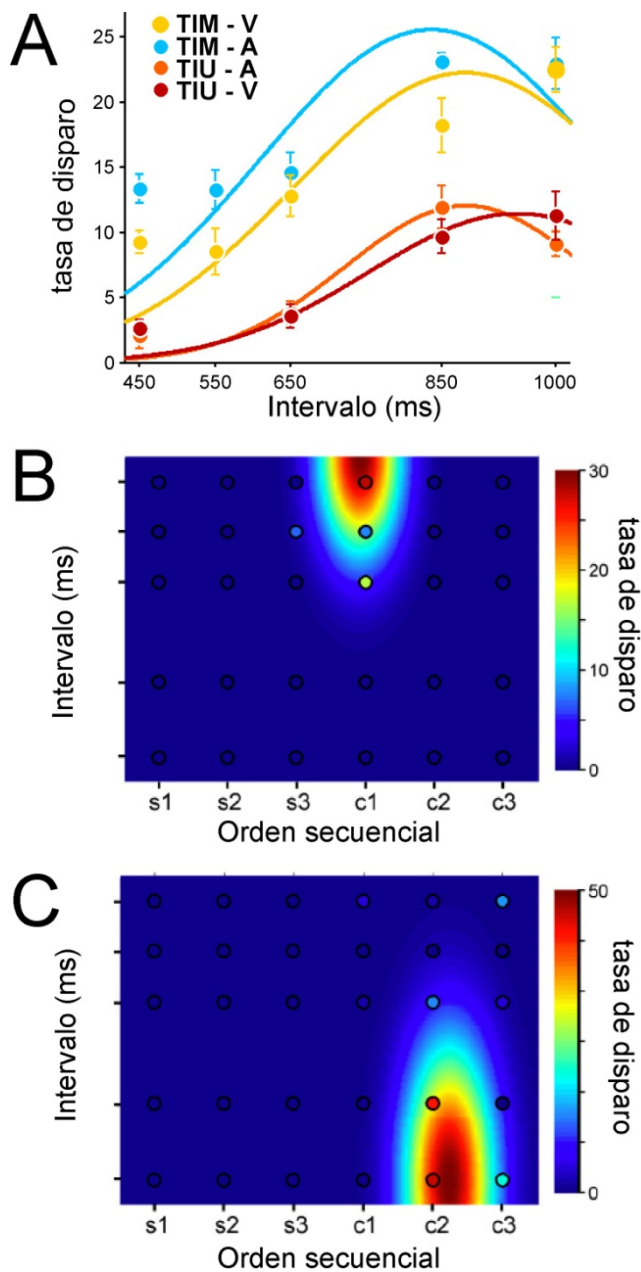
#### 2.3.4. Evidencia neurofisiológica

Finalmente, cabe mencionar que existe evidencia neurofisiológica de la participación del neocórtex en el procesamiento temporal, aunque en un orden de magnitud mayor al que aborda este trabajo. Al registrar neuronas de la corteza prefrontal y neuronas estriatales, mientras ratas ejecutaban una tarea de producción de intervalos blanco de 10 ó 40 segundos, se encontró que en una proporción de las neuronas registradas (15-20%) tanto corticales como estriatales, la tasa de disparo se incrementaba consistentemente después de que transcurrió un intervalo cercano al intervalo blanco (Matell et al., 2003), lo que apoya la idea de que la duración es representada en la tasa de disparo de neuronas pertenecientes a ensambles cortico-estriatales.

En un estudio reciente de nuestro laboratorio (Merchant et al., 2011) se encontró actividad neuronal relacionada a la cuantificación del paso del tiempo en el Área Motora Suplementaria (SMA). Al registrar la actividad de neuronas únicas del SMA mientras monos Rhesus ejecutaban una tarea de producción de intervalos (Tarea de intervalos múltiples – TIM) utilizando 5 diferentes intervalos blanco, fue posible identificar 4 poblaciones de neuronas (Figura 2.10) con diferentes tipos de actividad asociada al paso del tiempo: 1) Neuronas de Tiempo Relativo, esta población presentó actividad en rampa, incrementando su tasa de disparo linealmente a través del tiempo hasta alcanzar un umbral. La duración de estas rampas se incrementó en función del intervalo blanco, a la vez que su pendiente disminuyó en función de la duración del intervalo. Se les considera de tiempo relativo ya que el pico de la rampa ocurrió alrededor de 200ms antes de que el animal presionara el botón y el valor de dicho pico cambia poco para diferentes intervalos. 2) Neuronas con actividad en columpio. Presentaron un patrón de actividad decreciente-creciente y la profundidad de la caída en su actividad fue proporcional a la duración del intervalo blanco. 3) Neuronas de tiempo absoluto. Tienen un patrón de actividad creciente-decreciente cuya duración fue proporcional a la duración del intervalo blanco. Finalmente 4) Neuronas acumuladoras. Presentaron actividad en rampa cuya pendiente se mantuvo prácticamente constante en diferentes intervalos blanco, sin embargo su duración, y por consecuencia también su pico de actividad, eran proporcionales a la duración del intervalo blanco.



**Figura 2.10.** Actividad neuronal en el Área Motora Suplementaria asociada al paso del tiempo durante la ejecución de la TIM. Se muestra la función de densidad de espigas promedio de 5 ensayos de una sola neurona de cada tipo a través del tiempo desde la respuesta anterior o la respuesta siguiente (líneas negras verticales). A. Rampas clasificadas como “motoras”. B. Rampas de neuronas de tiempo relativo. C. Neurona en columpio. D. Neurona de tiempo absoluto. E. Neurona acumulador. Las diferentes duraciones de intervalo blanco se muestran en código de color, (inserto en el panel A). C-E. La actividad se alineó a la respuesta previa (Izquierda) y a la respuesta siguiente (Derecha). Modificado de (Merchant et al., 2011).



**Figura 2.11.** Actividad Neuronal Sintonizada en el Área Motora Suplementaria. A. Tasa de disparo global de una neurona en diferentes tareas y modalidades sensoriales. Se grafica la tasa de disparo promedio ( $\pm$ SEM) en función del intervalo blanco. Las líneas son ajustes a funciones gaussianas. B-C. Dos neuronas doblemente sintonizadas al intervalo y a la estructura secuencial de la Tarea de Intervalos Múltiples (TIM). Se muestra la tasa de disparo en función del intervalo y la secuencia de la TIM: S1-C3 son los intervalos de la fase de sincronización y la de continuación. Modificado de (Merchant et al., 2013b).

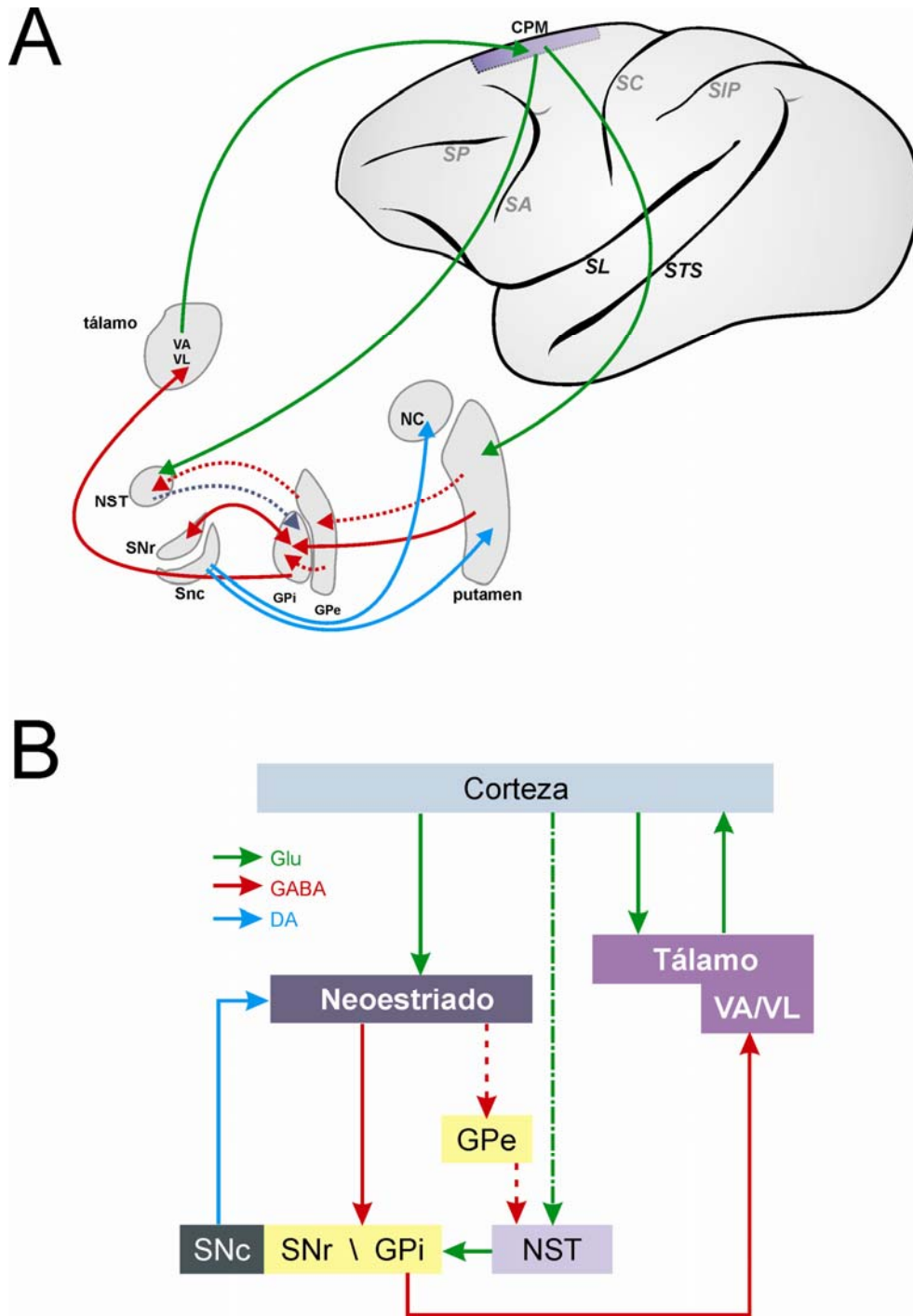
Más aún, también en el área motora suplementaria, se ha encontrado actividad sintonizada a duraciones específicas (Merchant et al., 2013b), y se describen poblaciones de neuronas que incrementan su tasa de disparo de manera preferencial en intervalos particulares (Figura 2.11). Este proceso de sintonización representa una señal más abstracta que la actividad en rampas descrita anteriormente. De hecho, se observó que las propiedades de sintonización se mantienen en diferentes tareas (TIM, TIU – descritas en la sección 2.2), aunque la magnitud de la tasa de

disparo se incrementa para la tarea TIM, sugiriendo la existencia de un mecanismo de ganancia que depende del número de intervalos producidos en cada ensayo (Figura 2.11A). Es importante también señalar que estas neuronas presentan un proceso de sintonización doble, codificando 2 variables al mismo tiempo: 1) la duración del intervalo blanco, como se ha descrito, y 2) la posición ordinal de un intervalo en la estructura secuencial de la tarea TIM, de modo que la neurona incrementó su tasa de disparo cuando el animal debía producir intervalos de una duración particular, pero además en momentos específicos de un ensayo de la tarea (Figura 2.11B,C). Estos hallazgos son congruentes con el papel descrito para el área motora suplementaria en la planeación de secuencias de movimientos, y aporta evidencia de que en la planeación del movimiento se superpone el componente temporal, en concordancia con los estudios de neuroimagen funcional descritos anteriormente.

#### **2.4. El neostriado y circuitos corteza-ganglios de la base: anatomía y función.**

Cabe preguntarnos ahora cómo es que el estriado participa en la cuantificación de intervalos. Los hallazgos descritos, en conjunto, sugieren que el estriado es crucial para el procesamiento de la información temporal. La anatomía de los ganglios basales sugiere que la información temporal se procesaría en circuitos cortico-estriado-tálamo-corticales, y esta idea es apoyada por estudios de neuroimagen.

Los ganglios basales son una serie de estructuras subcorticales, incluyendo al núcleo caudado, putamen (estos 2 núcleos en conjunto son llamados ‘neostriado’), el globo pálido, que se divide en una porción externa (más lateral) y una interna (más medial y ventral), la *substantia nigra* del mesencéfalo, dividida en *pars compacta* y *pars reticulata*, y el núcleo subtalámico. La principal vía de entrada de información a los ganglios basales es el neostriado, que recibe aferencias glutamatérgicas de toda la corteza, y en menor medida del tálamo. El neostriado recibe aferencias moduladoras dopaminérgicas de la *substantia nigra pars compacta*. También recibe aferencias del sistema límbico. La vía de salida de los ganglios basales son proyecciones del globo pálido interno hacia diversos núcleos talámicos. El tálamo, a su vez, proyecta de regreso hacia la corteza (Parent y Hazrati, 1995; Haber, 2003).



**Figura 2.12.** Representación esquemática del circuito de los Ganglios de la Base. **A.** Representación esquemática de un circuito que se origina en las cortezas premotoras mediales. **B.** Diagrama del mismo circuito en el que se ilustran más claramente las diferencias entre las vías directa (líneas continuas), indirecta (línea discontinua) e hiperdirecta (línea con puntos intercalados). Los neurotransmisores que utilizan las neuronas de proyección de cada área se codifican por color, de acuerdo al inserto en B. CPM-cortezas premotoras mediales, SP-surco principal, SC-surco central, SIP-surco intraparietal, SA-surco arcuato, SL-surco lateral, STS-surco temporal superior, NC- núcleo caudado, GPe/i-globo pálido externo/interno, SNc/r-*Substantia nigra pars compacta/reticulata*, NST-núcleo subtalámico, VA-complejo ventral-anterior talámico, VL-complejo ventro-lateral talámico.

Los principales blancos talámicos de los ganglios basales son el complejo ventral-anterior (VA) y el ventrolateral (VL), hacia los que envían eferencias GABAérgicas. Blancos menores son el complejo centromedial (CM) y el núcleo parafascicular. Los eferentes tienen múltiples colaterales, usualmente una sola neurona de proyección hace sinapsis en varios núcleos talámicos. El núcleo VA proyecta principalmente a la corteza motora suplementaria. El núcleo VL proyecta principalmente a las cortezas premotora y motora primaria. El núcleo CM y el parafascicular proyectan de regreso hacia el neocórtex.

En el neocórtex se presenta un alto grado de convergencia, ya que un gran número de aferentes corticales (de 10,000 a 30,000) hacen sinapsis con una neurona mediana espinosa NMS. Las NMS son las principales células de entrada y salida del neocórtex. El neocórtex envía eferencias GABAérgicas a través de dos vías conocidas como ‘directa’ e ‘indirecta’ (Figura 2.12B). La vía directa es formada por proyecciones neocórtices hacia el complejo globo pálido interno-sustancia negra reticulada. A su vez, estas dos estructuras proyectan principalmente al tálamo. La vía indirecta pasa por el segmento externo del globo pálido y el núcleo subtalámico, que proyecta hacia los dos segmentos del globo pálido y la sustancia negra reticulada. Por lo menos en aquellos organismos en los que el caudado y el putamen se encuentran anatómicamente segregados, el caudado envía aferencias tanto hacia el putamen como hacia el globo pálido, lo que genera dos vías distintas de comunicación.

Se ha atribuido clásicamente a los ganglios basales un papel básicamente motor (Middleton y Strick, 2000a). Las neuronas del globo pálido interno inhiben de manera tónica a las neuronas talámicas. La activación de la vía directa libera a las neuronas talámicas de esta inhibición tónica. Por otro lado, la vía indirecta tiene el efecto opuesto. Las neuronas del núcleo subtalámico envían eferencias glutamatérgicas al globo pálido interno y a la sustancia negra reticulada, incrementando así el tono inhibitorio de estas estructuras sobre el tálamo, la activación del globo pálido externo inhibe a las neuronas glutamatérgicas del núcleo subtalámico, disminuyendo el tono inhibitorio. Así, las vías directa e indirecta interactúan y modulan la actividad de las neuronas talámicas, y subsecuentemente, la actividad de las neuronas de las cortezas premotora y motora suplementaria.

Existen canales (asas) de procesamiento de información en el circuito corteza-ganglios basales-tálamo-corteza, estas asas presentan un cierto grado de segregación anatómica y/o funcional, de

tal manera que las proyecciones de un territorio funcional dado de la corteza hacen sinapsis en territorios funcionales específicos del estriado (Alexander y Crutcher, 1990; Middleton y Strick, 2000a, 2000b). Así, se conocen asas de procesamiento que se categorizan como motoras, premotoras (Figura 2.12A), de asociación y límbicas, con base en la región cortical en la que se originan. La segregación funcional se mantiene dentro del estriado por diferencias de conectividad y por marcadores neuroquímicos de las neuronas estriatales, que puede ser observada como una compartimentalización en estriosomas que se hallan envueltos por una matriz. Es posible que las asas sean laxamente cerradas, es decir, que se mantengan relaciones entrada/salida dentro de una misma región cortical sin que necesariamente una misma neurona cortical envíe eferencias hacia los ganglios de la base, y reciba aferencias desde ellos. En el macaco, las asas premotoras se originan en el área motora suplementaria, que envía proyecciones hacia el putamen dorso-lateral, al nivel antero-posterior de la comisura anterior (Parent y Hazrati, 1995).

De cualquier forma, las posibilidades mencionadas pueden constituir un sustrato neuroanatómico para el cómputo de la información temporal al ser capaz de generar oscilaciones en la actividad cortical, o generar/detectar patrones específicos de actividad cortical que cambien en función del tiempo. Un patrón de actividad específico en la corteza activaría a una población neuronal determinada del estriado, y en última instancia esto modificaría el patrón de actividad cortical, lo que a su vez llevaría a la activación de otra población neuronal en el estriado. Tal organización neuroanatómica podría generar oscilaciones (actividad reverberante) con una temporalización precisa, en las que el patrón de actividad serviría como un marcador del número de oscilaciones transcurridas. En este contexto, las aferencias dopaminérgicas que recibe el estriado modularían la efectividad de la excitación glutamatérgica que reciben las neuronas espinosas medianas estriatales (Flores-Hernández et al., 1997; Surmeier et al., 2011). Esto es congruente con la incapacidad de la L-DOPA para restaurar la habilidad de ratas para resolver una tarea de intervalos de tiempo cuando se lesiona el estriado.

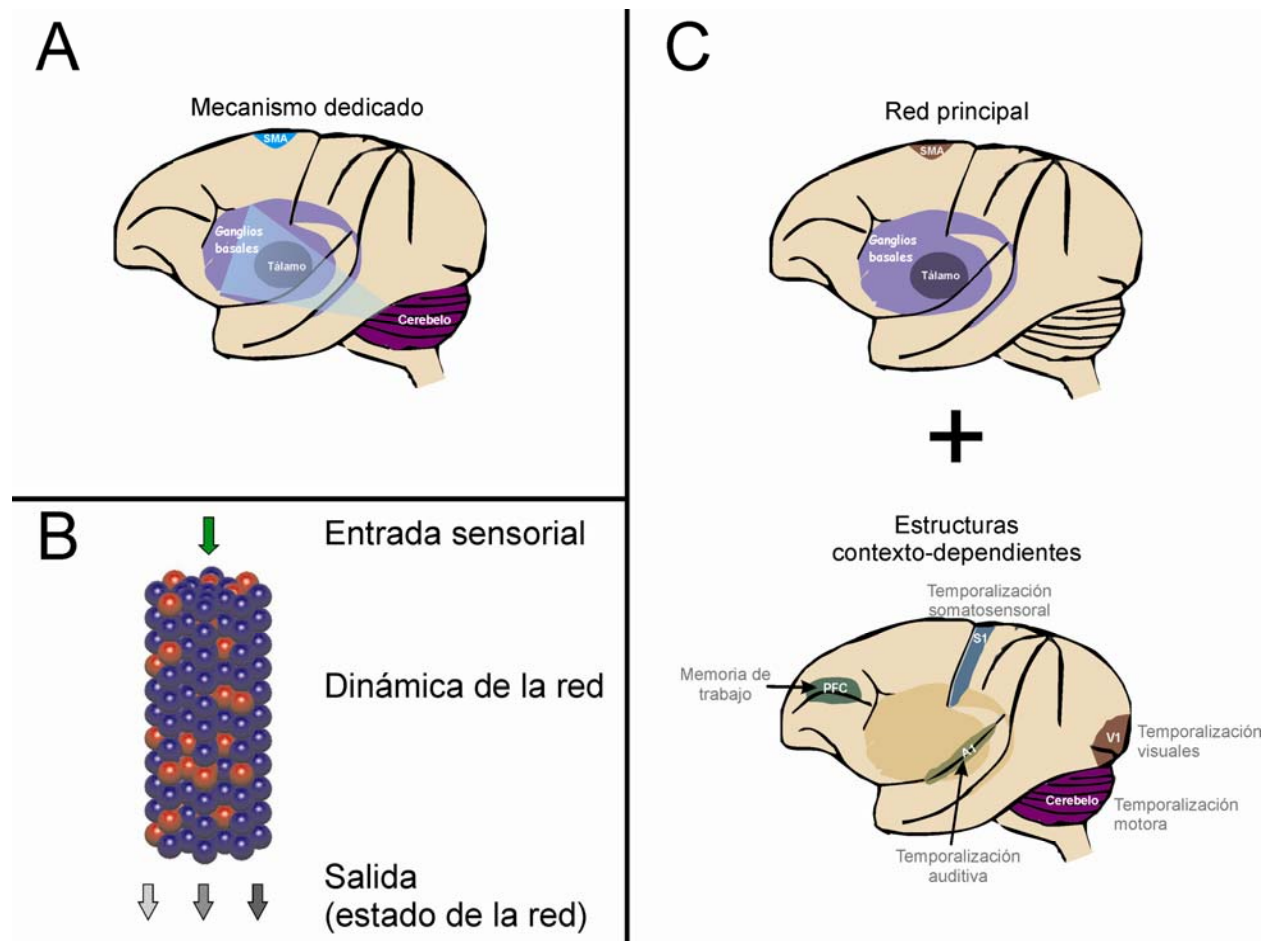


## 2.5. Teorías del procesamiento temporal y los ganglios de la base.

La interpretación más simple de los resultados de estudios de correlación de la variabilidad de la conducta temporal entre diferentes tareas, los estudios de aprendizaje-transferencia, la evidencia obtenida por resonancia magnética funcional y los estudios de lesiones, farmacológicos y de enfermedades neurodegenerativas, es suponer que existe un sistema neuronal dedicado al procesamiento de información temporal, conformado por un conjunto determinado de estructuras cerebrales que se utiliza en cualquier contexto en el que se requiera cuantificar el paso del tiempo (Figura 2.13A).

Otra posibilidad es que el paso del tiempo sea una propiedad intrínseca de la dinámica de cualquier circuito neuronal (Karmarkar y Buonomano, 2007). Se ha observado que una red neuronal es capaz de cambiar su estado en respuesta a un estímulo, y este estado evoluciona en el tiempo siguiendo un patrón reproducible hasta regresar al estado original de la red. De este modo, si imaginamos que la evolución del estado de la red es representado en forma de una trayectoria en un espacio n-dimensional, siendo el tiempo una de las dimensiones, a partir de cada punto se puede conocer el tiempo transcurrido y el tiempo restante para que la red regrese a su estado original (Figura 2.13B). Además, un segundo estímulo recibido antes de que la red regrese a su estado original ocasionará una desviación en la trayectoria, y esta nueva trayectoria dependerá del punto de la trayectoria original en la que se reciba el segundo estímulo, por lo que contendrá información sobre el intervalo entre ambos estímulos.

Una tercera posibilidad (Merchant et al., 2013a) es que el sistema de cuantificación del tiempo esté conformado por una “red principal” de estructuras, incluyendo al área motora suplementaria, putamen y tálamo, que se reclutan siempre que se requiere cuantificar el paso del tiempo, además de otras estructuras “contexto dependientes” que se reclutan de manera específica de acuerdo a los requerimientos de la tarea (modalidad sensorial, percepción vs. producción, número de intervalos, etc.). Lo que diferencia a este modelo del que propone un sistema dedicado, es que las estructuras no llevan a cabo la cuantificación temporal por sí solas, sino en conjunción con las estructuras accesorias (Figura 2.13C).



**Figura 2.13.** Modelos teóricos del procesamiento de información temporal. A. Modelo de un mecanismo dedicado, común tanto a la percepción del paso del tiempo como a la ejecución de movimientos temporalizados, y que se utilizaría para cualquiera tarea que requiera la cuantificación del tiempo. B. Modelo de cuantificación del tiempo por la dinámica de la respuesta de una red neuronal a un estímulo. C. Modelo de “Red principal + estructuras contexto dependientes”, que incluye a un conjunto de estructuras que se reclutan en cualquier contexto de cuantificación del tiempo e interactúan con estructuras específicas que se activan dependiendo del contexto de la tarea. SMA-área motora suplementaria, PFC-corteza prefrontal, S1-corteza somatosensorial primaria, A1-corteza auditiva primaria, V1-corteza visual primaria. Modificado de (Merchant et al., 2013a)

En el contexto de un sistema dedicado a la cuantificación del tiempo, se ha propuesto que el estriado (Matell y Meck, 2004) es un nodo crítico de dicho sistema como se describe a continuación. En la corteza podemos encontrar diferentes ensambles neuronales que presenten actividad oscilatoria de diferentes frecuencias entre sí. Una neurona espinosa mediana, que reciba información de múltiples aferentes cortico-estriatales, puede actuar como un integrador de la información de salida de múltiples ensambles neuronales.

La neurona espinosa mediana es capaz de integrar información de numerosas aferencias, y además, el cómputo que realiza a partir de dichas aferencias presenta plasticidad modulada por influencias dopaminérgicas (Tecuapetla et al., 2007). Es decir, que el peso que cada aferencia tendrá en el cómputo de la neurona espinosa mediana puede ser modificado a través de señales dopaminérgicas. Esto implica que el estriado puede actuar en principio como un selector, o detector de coincidencia, sumando información proveniente de osciladores corticales probablemente de manera *quasi* aleatoria (dependiendo del historial de la propia espinosa mediana), y a través de entrada dopaminérgica se puede cambiar el peso de las sinapsis que recibe de modo que se seleccionen aquellas con una frecuencia tal que, en su suma, se pueda obtener una oscilación con un periodo distinto y más largo que cada una de las oscilaciones individuales (Matell y Meck, 2004). Esta teoría es conocida como *Striatal Beat Frequency Theory* (Teoría de frecuencia de pulsos estriatales).

Otra posibilidad, que no excluye a la anterior, es que el neoestriado actúe como un detector de tasa de disparo. Se ha observado el incremento tónico de la tasa de disparo en neuronas de diferentes regiones corticales (Fuster y Jervey, 1982; Romo et al., 1999; Merchant et al., 2011). Al llegar a un determinado umbral de actividad cortical se desencadenaría la respuesta estriatal, y este umbral de actividad sería susceptible de ser modificado por entradas dopaminérgicas. De este modo, el neoestriado actuaría como un medidor del tiempo transcurrido.

## **2.6 Actividad oscilatoria y su relación con la conducta**

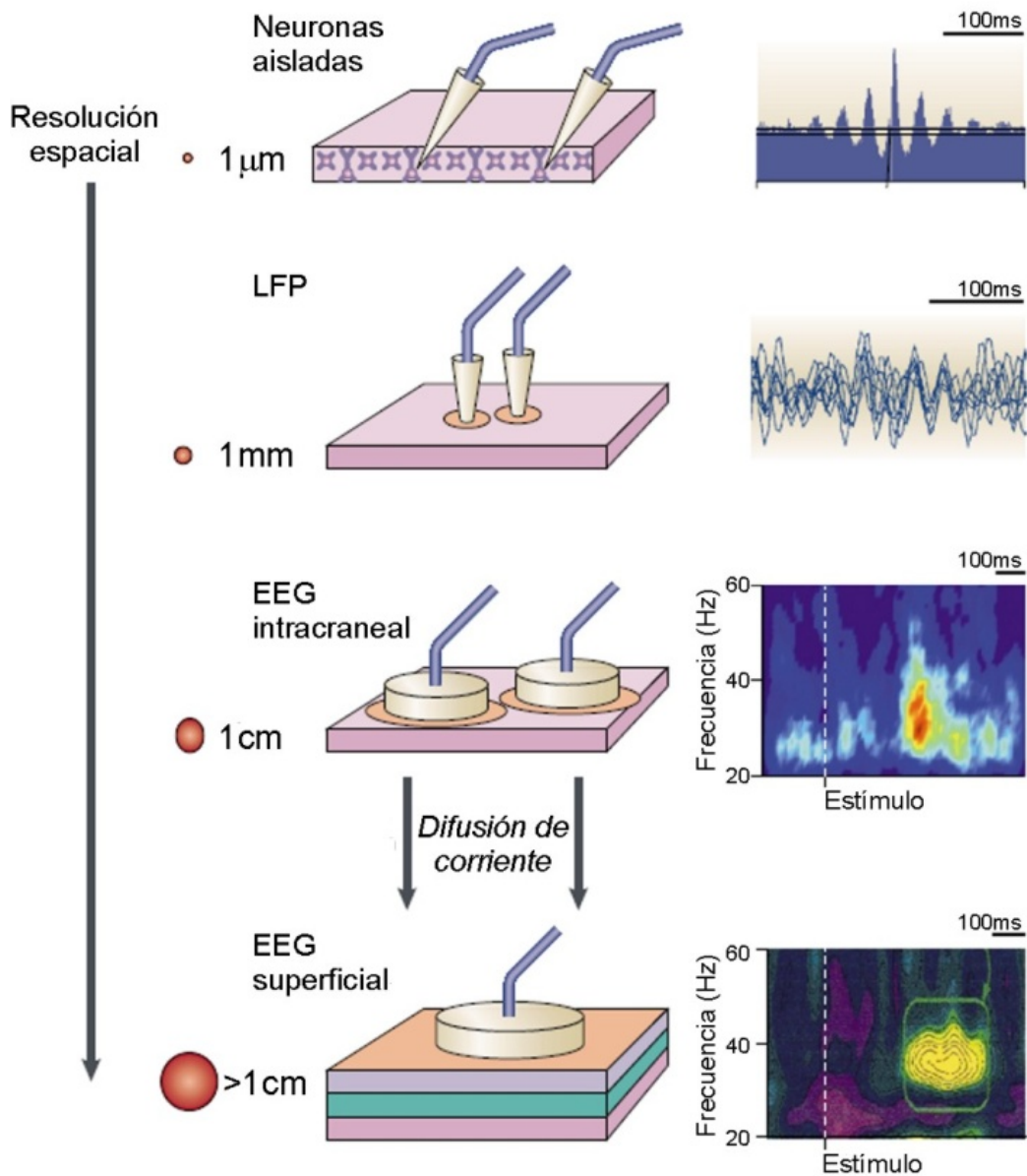
Se ha discutido ampliamente el significado de la actividad oscilatoria. Desde que Hans Berger inventó un método no invasivo para registrar la actividad cerebral, con posteriores variaciones y mejoras, el sistema básico sigue siendo ampliamente utilizado en la práctica clínica y psicológica, al grado de que constituyen pruebas legales para declarar a una persona viva o muerta. Sin embargo, descifrar el significado de los cambios del voltaje registrado a través del tiempo y el espacio (a través de regiones corticales) y cómo estos cambios se asocian a procesos conductuales o a experiencias subjetivas sigue siendo una pregunta abierta (Buzsáki, 2006). Hoy en día, además de potenciales con baja resolución espacial del Electroencefalograma (EEG),

utilizando métodos invasivos es posible registrar potenciales con una resolución espacial intermedia (Figura 2.14), en el orden de cientos de micrómetros, conocidos como Potenciales Locales de Campo (LFP por sus siglas en inglés). Además, es posible registrar potenciales eléctricos extracelulares con una resolución de neuronas únicas, e incluso la actividad de parches de membranas mediante la técnica de *Patch Clamp*. El registro de neuronas únicas ha arrojado una enorme cantidad de información sobre el funcionamiento del sistema nervioso central desde hace prácticamente medio siglo. Sin embargo, su limitante es el bajo número de elementos de un circuito que se pueden registrar de manera simultánea. Para superar esta limitante, se han desarrollado métodos de registro que incluyen a cada vez más neuronas aisladas, y también se han utilizado registros de LFP's solos o en conjunción con el registro de neuronas aisladas. También se ha desarrollado la Magnetoencefalografía (MEG), una técnica que permite registrar potenciales eléctricos lentos de manera no invasiva, pero con una mejor resolución espacial que el EEG y con menos problemas de distorsión por la conductividad del cráneo y el cuero cabelludo y sin la necesidad de un electrodo de referencia.

La actividad eléctrica que se observa en cualquier tipo de registro extracelular se origina a partir de corrientes iónicas que fluyen a través de las membranas de las neuronas. El Potencial Local de Campo refleja la suma de las corrientes de un gran número de neuronas. De hecho, en el campo local encontramos componentes de corrientes rápidas que tienen su origen en los potenciales de acción de neuronas localizadas cerca del electrodo, y componentes de corriente más lentos que tienen su origen en los potenciales post-sinápticos. Las membranas celulares, tanto de neuronas como glía, actúan como un filtro capacitivo que solo permite pasar cambios de voltaje de bajas frecuencia, Por otro lado, los potenciales post-sinápticos, por ser relativamente lentos, tienen mayor probabilidad de ocurrir dentro de una ventana de tiempo que les permita sumarse. Por esta razón, los componentes lentos derivados de potenciales post-sinápticos son los que tienen un peso predominante en el LFP, de modo que esta señal refleja principalmente la entrada sináptica a un grupo de neuronas (Buzsáki, 2006).

La actividad eléctrica de circuitos neuronales registrada mediante señales continuas (EEG y LFP) o señales discretas obtenidas de registros simultáneos de un gran número de neuronas aisladas, suele ser periódica con múltiples componentes de frecuencias que cambian a través del tiempo. De modo que una manera de analizar señales de grupos grandes de neuronas es el análisis

espectral (ver Parte 4 – Métodos). En este análisis, el poder de las oscilaciones se correlaciona con la sincronía entre las neuronas que se encuentran dentro del radio de registro (Buzsáki, 2006).



**Figura 2.14.** Resolución espacial de diferentes tipos de señales electrofisiológicas. EN la columna de izquierda se esquematiza la porción de tejido que abarca el registro, en la columna de la derecha se ilustra el análisis de la señal registrada. En neuronas aisladas registradas simultáneamente, es posible medir su sincronía directamente construyendo histogramas de potenciales de acción. Para señales de campo, la sincronía se correlaciona con la amplitud de los cambios de voltaje o el poder de la actividad oscilatoria en alguno de sus componentes de frecuencia. Modificado de (Varela et al., 2001)

### 2.6.1. La actividad oscilatoria se relaciona con el movimiento

Utilizando este enfoque, se ha observado que diferentes componentes de frecuencia en registros de LFP en la corteza motora primaria reflejan diferentes estados funcionales (Sanes y Donoghue, 1993). Se entrenó a monos para realizar movimientos de giro de la muñeca. Antes de realizar el movimiento, se daba a los animales una señal preventiva (*pre-cue*) para que mantuvieran la mano en una palanca en espera de una señal de giro (*go-cue*). Al aparecer el *go-cue*, los animales debían hacer girar la palanca. Se encontró actividad rítmica (15-50 Hz) que iniciaba con el *pre-cue* y terminaba cuando iniciaba el movimiento de giro. Sin embargo, no se pudo asociar la pérdida de la actividad oscilatoria con el movimiento, ya que en ocasiones se recuperaba antes de que terminara el ensayo.

En otro estudio (Schoffelen et al., 2005) se registró la actividad oscilatoria mediante magnetoencefalografía (MEG) en la corteza motora, a la vez que se registraba la actividad eléctrica muscular (electromiograma – EMG) del musculo *extensor carpi radialis longus*. Se pidió a participantes humanos que participaran en una tarea de tiempo de reacción, en la que tenían que extender su mano para elevar una palanca en respuesta a una señal de inicio. La señal de inicio se presentaba en un momento impredecible después de presentarse una señal preventiva, pero antes de un tiempo límite. De modo que cuando más tiempo pasara desde la señal preventiva, era más probable que se presentara la señal de inicio. Se comprobó que los participantes entendían este incremento de probabilidad por la disminución de los tiempos de reacción en ensayos en los que pasaba más tiempo entre la señal preventiva y la señal de inicio. Este efecto conductual se asoció con una disminución gradual del poder de las oscilaciones en frecuencias de la banda beta ( $\beta$ : 10-30 Hz) conforme pasaba el tiempo desde la señal preventiva, presentando una correlación inversa con la probabilidad de que apareciera la señal de inicio, a la vez que el poder de oscilaciones en la banda gamma ( $\gamma$ : 40-80 Hz) se hacían más prominentes. De modo que se asoció a las oscilaciones  $\gamma$  con la preparación para ejecutar el movimiento, mientras  $\beta$  se atribuyó más bien a la inhibición de la respuesta motora.

### *2.6.2. La actividad oscilatoria se relaciona con procesos cognoscitivos*

También se ha observado actividad oscilatoria relacionada con procesos cognoscitivos, tanto en el EEG (Harmony et al., 2009) como en los LFP. En un estudio (Howe et al., 2011) se entrenó a ratas para resolver una tarea de laberinto en “T”, en la que tenían que girar a la izquierda o a la derecha en respuesta a una señal de instrucción, recibiendo recompensa si giraban en la dirección indicada. Se registró el LFP y la actividad de neuronas aisladas en el estriado ventromedial, implantando tetrodos de manera crónica, desde el inicio del entrenamiento hasta que la rata dominaba completamente la tarea. Se encontraron 4 resultados interesantes: 1) al promediar los LFP de diferentes sesiones, se encontraron incrementos en el poder de la actividad en la banda  $\beta$  relacionados con la finalización del ensayo, y estos incrementos eran mayores para los ensayos correctos; 2) a lo largo del entrenamiento, incrementos transitorios de la amplitud oscilaciones en la banda  $\gamma$  se debilitan gradualmente, siendo sustituidos por incrementos transitorios de la amplitud de  $\beta$ . 3) La actividad oscilatoria y la actividad de neuronas únicas registradas simultáneamente en el mismo sitio presentan asociación funcional, manifestada por una relación de fase estable. Esta relación de fase se invierte dependiendo del tipo de neurona registrada (principal vs. interneurona), pero es independiente la frecuencia de las oscilaciones. 4) La actividad oscilatoria  $\beta$  registrada en sitios distantes presenta un grado alto de sincronía, mientras que la actividad  $\gamma$  solo presenta sincronía débil entre sitios de registro cercanos. En conjunto, los resultados de este estudio sugieren que la actividad  $\gamma$  predomina cuando el animal no ha asociado un estímulo con una respuesta, además, el hecho de que las oscilaciones  $\gamma$  no presenten sincronía entre sitios de registro sugiere que esta actividad refleja ciclos de actividad de neuronas principales e interneuronas en un microcircuito. Por otro lado, los resultados encontrados para la banda  $\beta$  sugieren que esta actividad refleja la actividad sincronizada de grandes circuitos estriatales, esto posiblemente se deba a que en  $\beta$  los ciclos de actividad de neuronas principales e interneuronas son más lentos, por lo que la ventana temporal en la que se suma la actividad de neuronas individuales es mayor. El reclutamiento de una red grande que oscila en  $\beta$  después del aprendizaje podría interpretarse en términos del surgimiento de un circuito que ha sido moldeado por el aprendizaje, mientras que circuitos pequeños que oscilan en  $\gamma$  pueden interpretarse como ciclos rápidos de inhibición, probablemente asociados al proceso de formación de un nuevo ensamble neuronal.

En otro estudio en el que se analizó la actividad oscilatoria estriatal (Leventhal et al., 2012), se observó que la actividad  $\beta$  se asocia a la utilización de información sensorial para resolver una tarea, y que además refleja actividad sincronizada en circuitos corteza-ganglios basales-tálamo-corteza. Se utilizó una tarea en la que una rata debía meter su nariz en un puerto para iniciar un ensayo, entonces se presentaba una señal preventiva y el animal debía esperar quieto hasta la presentación de una señal de inicio que le indicaba al animal que debía sacar la nariz del puerto y meterla en un segundo puerto para recibir recompensa. Con esta estrategia fue posible dissociar el componente motor de la tarea, y se encontró que ráfagas de actividad  $\beta$  se asociaban a la presentación de la señal preventiva, pero no a la presentación de la señal de inicio, lo que podría interpretarse como actividad asociada a la planeación de la acción. Sin embargo, para dissociar mejor esto se modificó la tarea, de modo que la primera señal indicaba al animal que debía mover su nariz a otro puerto para recibir recompensa, sin embargo, en algunos ensayos se presentaba una segunda señal, de cancelación, que le indicaba al animal que debía cancelar el movimiento y mantener su nariz en el primer puerto para recibir recompensa. De manera interesante, esta modificación de la tarea proporciona una nueva interpretación para las ráfagas de actividad  $\beta$ , ya que se presentó una segunda ráfaga cuando los animales cancelaban exitosamente el movimiento en respuesta a la señal de cancelación. No obstante, cuando los animales no cancelaban su movimiento y realizaban un ensayo incorrecto esta segunda ráfaga no se presentaba, de modo que  $\beta$  se asocia a la planeación del movimiento, pero también a la planeación de no realizar un movimiento en respuesta a una señal sensorial. Un segundo hallazgo importante de este estudio fue que, registrando simultáneamente la actividad oscilatoria en la corteza motora primaria, el estriado, el globo pálido y el núcleo subtalámico, las ráfagas de actividad  $\beta$  se presentaba de manera sincrónica en todo este circuito, resaltando el papel de la actividad en esta banda en la activación de grandes circuitos neuronales.



### 2.6.3. *Conjunción de rasgos y sincronía neuronal*

Hablar de actividad sincronizada entre diferentes estructuras hace pensar en el problema de la *conjunción de rasgos*. Este problema se puede ilustrar de manera sencilla de la siguiente manera: diferentes partes del cerebro se encargan de procesar diferentes atributos de un estímulo, como por ejemplo la segregación entre las vías visuales dorsal y ventral, que procesan información sobre la posición de un objeto en el espacio o sobre su identidad, respectivamente. Cómo es que se integra la actividad de ambas vías para generar una unidad perceptual. Una posible solución a este problema es la hipótesis de *conjunción por sincronía* (Singer y Gray, 1995). Esta hipótesis propone que la actividad sincronizada a través de diferentes regiones cerebrales es un mecanismo por el que se unen diferentes aspectos de un estímulo y se genera una percepción. Por extensión, lo mismo se aplica tanto para la percepción como para la acción.

En este contexto, cabe también preguntar si la sincronía surge por un procesamiento de información *bottom-up* (abajo-arriba), es decir, guiada por los estímulos, o si surge a partir de procesos *top-down* (arriba-abajo) siendo más bien guiada por procesos internos que modulan la percepción o generan una acción.

Se ha reportado que la actividad  $\gamma$  se sincroniza localmente dentro de una estructura específica, como la corteza visual (Lima et al., 2010) o el bulbo olfatorio (Kay y Beshel, 2010) en respuesta a la presentación de un estímulo visual u olfativo, respectivamente. En contraste, la actividad  $\beta$  se presenta de manera sincrónica entre diferentes estructuras del sistema olfativo como de los ganglios de la base, sobre todo cuando dos estímulos son difíciles de discriminar (Kay y Beshel, 2010) o cuando los estímulos son utilizados como una guía para resolver una tarea, mas no a los estímulos por sí mismos (Kay y Beshel, 2010; Leventhal et al., 2012). Esto sugiere que la actividad  $\gamma$  podría ser generada por procesos *bottom-up*, mientras que  $\beta$  más bien surge de procesamiento *top-down*. Esta idea es apoyada porque  $\beta$  se inhibe en el sistema olfatorio cuando se suprimen las aferencias hacia el bulbo olfatorio desde el resto del cerebro. En el sistema motor, la actividad  $\beta$  en la corteza motora se ha asociado a la inhibición o a la preparación de un movimiento durante periodos de espera (Donoghue et al., 1998), lo que también podría interpretarse como un procesamiento *top-down*.

# Parte 3. Hipótesis y Objetivos

---

## *3.1. Planteamiento del problema*

La evidencia revisada indica que el estriado participa en la cuantificación de intervalos de cientos de milisegundos. Se ha encontrado que el área motora suplementaria de la corteza cerebral (AMS) participa en dicho proceso y que diferentes poblaciones neuronales codifican la información temporal de diferentes maneras. La manera más abstracta de codificación es la sintonización, y las neuronas del AMS presentan sintonización simultáneamente a la duración y a la estructura secuencial. Dado que el AMS envía proyecciones hacia el estriado (caudado/putamen) formando circuitos corteza-ganglios basales-tálamo-corteza, y que existe evidencia de que el estriado es una estructura crucial en el procesamiento de información temporal, surge la pregunta de cuál es su papel en la cuantificación del tiempo y en la generación de movimientos rítmicos. Se conoce el papel del estriado en el control motor y la ejecución de movimientos secuenciales. Lo anterior sugiere que la AMS y el estriado se asocian funcionalmente de manera dinámica para producir secuencias de movimientos temporalizados.

Se ha mostrado que la actividad oscilatoria, como la que se presenta en Potenciales de Campo Local, se genera por la actividad sincronizada de grupos neuronales. Cambios en la frecuencia de la actividad oscilatoria reflejan cambios en la conformación funcional de los circuitos y cambios en la amplitud reflejan el nivel de sincronía entre los elementos del circuito. Los parámetros amplitud y frecuencia se han podido asociar a la integración de información sensorimotora para guiar la conducta. Oscilaciones de alta frecuencia (banda  $\gamma$ ) reflejan la integración de información sensorial en circuitos locales, mientras que oscilaciones de baja frecuencia (banda  $\beta$ ) reflejan la actividad de circuitos grandes durante la implementación de una acción.

En el contexto de la tarea de Sincronización-Continuación, es posible que ocurra un cambio en la frecuencia de la actividad oscilatoria entre la fase guiada por estímulos externos y la fase en la que el animal debe guiar sus movimientos internamente, o que diferentes circuitos, con diferentes frecuencias de oscilación, participen en cada fase de la tarea.

### 3.2. Hipótesis

- A. En Potenciales de Campo Local, registrados en el putamen de monos Rhesus mientras ejecutan una secuencia de movimientos rítmicos, se encontrará actividad asociada a:
  - 1. la temporalidad de los movimientos
  - 2. a la estructura secuencial de la tarea.
- B. La frecuencia de la actividad oscilatoria cambiará en función del contexto en el que se ejecutan los movimientos.
  - 1. En el contexto guiado por estímulos externos predominarán frecuencias de la banda  $\gamma$ .
  - 2. En el contexto de producción endógena predominarán frecuencias de la banda  $\beta$ .
- C. La actividad de neuronas aisladas estará asociada a la actividad en los Potenciales de Campo Local.

### 3.3. Objetivos

- A. Entrenar a monos Rhesus en la ejecución de la tarea de Sincronización-Continuación.
- B. Registrar la actividad eléctrica extracelular en el putamen de los animales mientras ejecutan la tarea:
  - a. Potenciales de Campo Local y
  - b. disparo de potenciales de acción en neuronas aisladas
- C. Analizar la actividad oscilatoria de los Potenciales de Campo Local para establecer si los parámetros espectrales (frecuencia y poder) se asocian con:
  - a. la temporalidad de los movimientos y
  - b. la estructura secuencial de la tarea.
- D. Determinar si la frecuencia de oscilación se asocia al contexto en el que se producen los movimientos rítmicos (guiados por estímulos sensoriales o producidos internamente).
- E. Determinar la relación funcional entre las oscilaciones de los Potenciales de Campo Local y los patrones de disparo de neuronas aisladas.

# Parte 4. Métodos

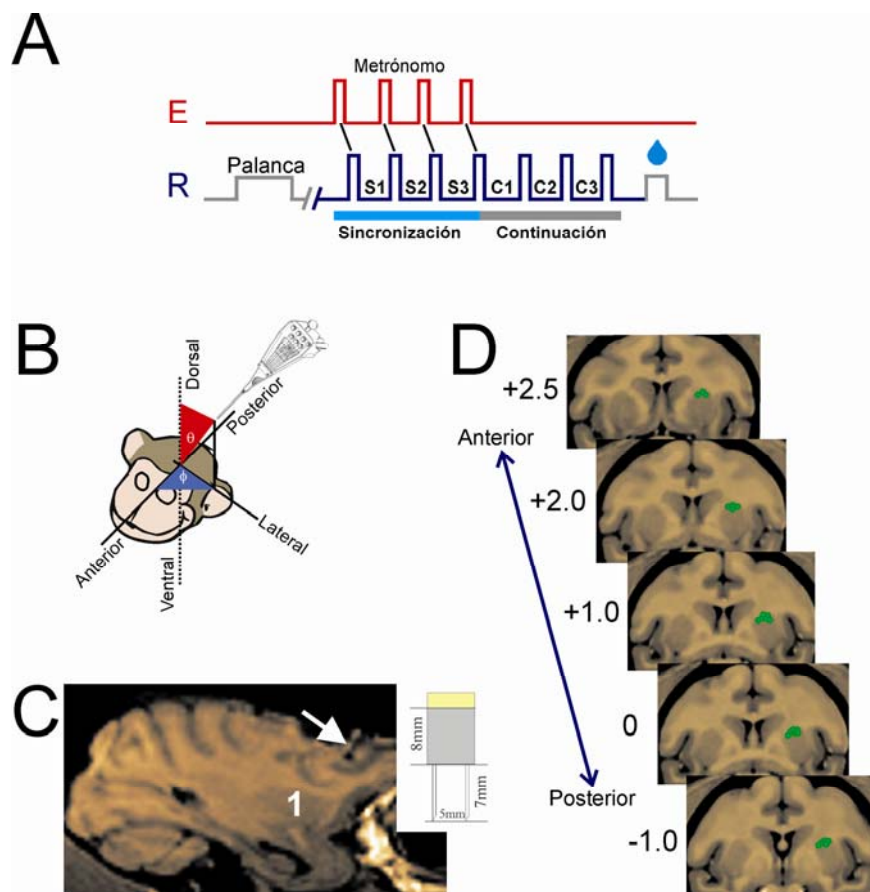
---

## 4.1 Conducta.

Se entrenó a 2 monos Rhesus (*Macaca mulatta*), machos, uno de ellos zurdo, de entre 5 y 7 Kg de peso, en la producción de una tarea de Sincronización-Continuación (Figura 4.1-A). Cada ensayo de la tarea consistía de tres fases: en la primera fase (Periodo control), el animal debía colocar su mano en una palanca de inicio, indicando al sistema que estaba listo y atento para iniciar la tarea, y debía sujetar la palanca durante al menos 500ms. Una vez transcurrido el periodo control, iniciaba la segunda fase (Sincronización) en la que el animal debía golpear rítmicamente un botón, sincronizando su golpeteo con una serie de estímulos cortos (32ms) separados por un intervalo inter-estímulo constante (intervalo blanco). Una vez que el animal produjese 3 intervalos inter-golpe iniciaba la tercera fase (Continuación), en la que los estímulos rítmicos cesaban, no obstante el animal tenía que continuar golpeando el botón con la misma ritmicidad, para producir 3 intervalos más, ahora sin el beneficio de la guía sensorial. Para que un ensayo fuera considerado correcto, el animal debía golpear 7 veces el botón, produciendo una secuencia de 6 intervalos (S1, S2, S3, C1, C2, C3), cuya duración debía estar dentro de un margen de error del 20% del intervalo blanco. Por cada ensayo correcto el animal recibió jugo como recompensa.

Los detalles del entrenamiento han sido descritos en trabajos previos (Zarco Castro, 2011). Brevemente, se entrenó a los monos mediante condicionamiento operante. Primero se les enseñó a asociar la palanca de inicio con la recompensa, recibiendo un poco de jugo cada vez que tocaba la palanca de inicio, incrementando gradualmente el tiempo que debía mantener la mano en la palanca antes de recibir la recompensa. Posteriormente, se agregó un estímulo al final del periodo de sujeción de la palanca, y se enseñó al animal a presionar un botón en respuesta a ese estímulo único para recibir la recompensa. Entonces se agregaron estímulos de manera gradual hasta que el mono respondía a 7 estímulos golpeando el botón 7 veces para recibir la recompensa. El siguiente paso fue eliminar uno a uno los últimos 3 estímulos de la secuencia, pero guiando al animal para que golpeará el botón 7 veces, aún en la ausencia de estímulos.

Una vez que los animales alcanzaron un desempeño >75% de ensayos correctos, se realizó el registro electrofisiológico. En cada sitio de registro, se colectaron bloques de 25 ensayos. En cada bloque se utilizaron 5 diferentes intervalos blanco (450, 550, 650, 850 y 1000ms), colectando 5 ensayos de cada uno. Los intervalos fueron delimitados por estímulos auditivos o visuales, en bloques separados, y dentro de cada bloque las diferentes duraciones se presentaron en orden aleatorio. En la condición de estímulos auditivos se utilizaron tonos puros (500Hz, 60dB) y en la condición de estímulos visuales se usaron cuadrados rojos (RGB - [255,0,0]) de 10x10cm que se presentaron en un monitor de computadora.



**Figura 4.1.** Representación esquemática de la tarea de Sincronización-Continuación y ubicación de los sitios de registro. **A.** Secuencia de eventos en un ensayo de la tarea, E: estímulos isocrónicos, R: respuestas (golpes al botón), S1-S3: intervalos inter-golpe de la fase de sincronización, C1-C3: intervalos inter-golpe de la fase de continuación. **B.** Esquema del sistema de coordenadas esféricas para la inserción de los electrodos, donde  $\theta$  es el ángulo de inclinación y  $\phi$  es el ángulo de rotación. **C.** Imagen de RM en la que se corrobora que los ángulos de inserción calculados son apropiados para alcanzar el putamen. El número 1 muestra la ubicación del putamen, y la flecha blanca indica la trayectoria del dispositivo que se muestra en la esquina superior derecha del panel. **D.** Cortes coronales representativos en los que se muestran las ubicaciones predichas de los sitios de registro, indicados por los puntos de color verde. Los números a la izquierda son milímetros en el eje anteroposterior con respecto a la comisura anterior.

## **4.2 Registro electrofisiológico.**

Se registró la actividad eléctrica extracelular en el putamen. Se utilizó una matriz de 7 electrodos que se podían mover de manera independiente, controlando la profundidad a la que se colocaba cada uno (Thomas Recording, GmbH). La cabeza de la matriz era de acero inoxidable, tenía un arreglo lineal de cánulas guía afiladas, cada una con una longitud de 7mm, diámetro externo de 0.7mm y separadas 0.3mm una de la otra. Este arreglo permitió estimar las distancias entre pares de electrodos utilizando el Teorema de Pitágoras.

Se utilizaron electrodos de tungsteno/platino (diámetro del núcleo metálico: 23 $\mu$ m) aislados por una cubierta de cuarzo (diámetro externo: 80 $\mu$ m) y con una impedancia de 1-3m $\Omega$ . La señal cruda registrada por cada electrodo fue amplificada ( $\times 20000$ ) y digitalizada a 40kHz. Los potenciales de acción (espigas) fueron aislados manualmente fuera de línea utilizando el paquete Offline Sorter (Plexon, Dallas, TX). Para la adquisición de los Potenciales de Campo Local (LFP por sus siglas en inglés) se utilizó un filtro pasa-bajas con una frecuencia de corte de 140Hz (Thomas Recording, GmbH) y la señal filtrada se digitalizó a 571Hz.

## **4.3 Ubicación de los sitios de registro.**

Los registros se llevaron a cabo en el putamen dorsolateral, en el hemisferio contralateral a la mano con la que el animal golpeaba el botón, y a un nivel anteroposterior de  $\pm 2$ mm alrededor de la comisura anterior. Para colocar los electrodos en el sitio apropiado, se calcularon ángulos de inserción para los electrodos de modo que al moverlos en línea recta alcanzaran el sitio blanco (Figura 4.1B-D). El procedimiento se describe a continuación. Se adquirió un volumen de imágenes de resonancia magnética estructural (Phillips Intera MRI Scanner, 1.0T) pesadas a T1 (TR = 20ms, TE = 2ms, tamaño del voxel: 1 $\times$ 1 $\times$ 1mm). A partir de las imágenes, se determinaron las coordenadas estereotáxicas (cartesianas) para colocar una cámara de registro circular sobre un trépano. Los ejes  $x$ ,  $y$ , y  $z$  corresponden a los ejes medio-lateral, dorso-ventral y antero-posterior, respectivamente. La cámara de registro tenía un diámetro de 1.5cm y su centro se ubicó sobre el extremo caudal del surco principal, donde se encuentra la corteza prefrontal (área 46 de Brodmann).

El siguiente paso para la determinación de los ángulos de inserción fue ubicar las coordenadas estereotáxicas de un blanco en el putamen. Teniendo las coordenadas de ambos sitios es posible calcular los ángulos de inserción aplicando una conversión a coordenadas esféricas. Las coordenadas esféricas indican los ángulos de rotación e inclinación (Figura 4.1B), así como la distancia de un punto origen (punto de inserción) hasta un punto blanco (sitio de registro). Los ejes de referencia utilizados corresponden al eje antero-posterior, en el caso de la rotación; y al plano horizontal, para la inclinación. La equivalencia entre coordenadas estereotáxicas (cartesianas) y coordenadas esféricas es dada por las relaciones:

$$\rho = \sqrt{(x_{blanco} - x_{origen})^2 + (y_{blanco} - y_{origen})^2 + (z_{blanco} - z_{origen})^2} \quad (1)$$

$$\theta = \arctan\left(\frac{y_{blanco} - y_{origen}}{x_{blanco} - x_{origen}}\right) \quad (2)$$

$$\phi = \arccos\left(\frac{z_{blanco} - z_{origen}}{\rho}\right) \quad (3)$$

Donde  $\rho$  es la distancia del origen al blanco,  $\theta$  es la inclinación con respecto al plano horizontal y  $\phi$  es la rotación con respecto al eje antero-posterior. De este modo se calcularon ángulos de inserción apropiados.

Los ángulos calculados fueron corroborados utilizando una segunda serie de imágenes de resonancia magnética (Figura 4.1C). Fue posible visualizar la trayectoria que seguirían las cánulas guía, y los electrodos, utilizando un artefacto de material no magnético (polímero PEEK). Este artefacto consta de una base cilíndrica (7.7mm de diámetro y 8mm de altura) en la que se montaron dos agujas, del mismo material, con un diámetro externo de 0.8mm y separadas 5mm una de la otra (Figura 4.1C panel derecho). Las agujas sobresalen 7mm en un extremo del cilindro y, en el extremo opuesto, un tubo de plástico relleno de vitamina E (diámetro interno: 1.2mm, longitud: 7mm) sirvió como punto de referencia externo al encéfalo visible en resonancia magnética.

Es importante resaltar que las distancias a las que encontramos actividad neostriatal durante los registros fueron muy similares a la distancia predicha  $\rho$  para cada sitio (Figura 4.1D).

## 4.4 Análisis espectral

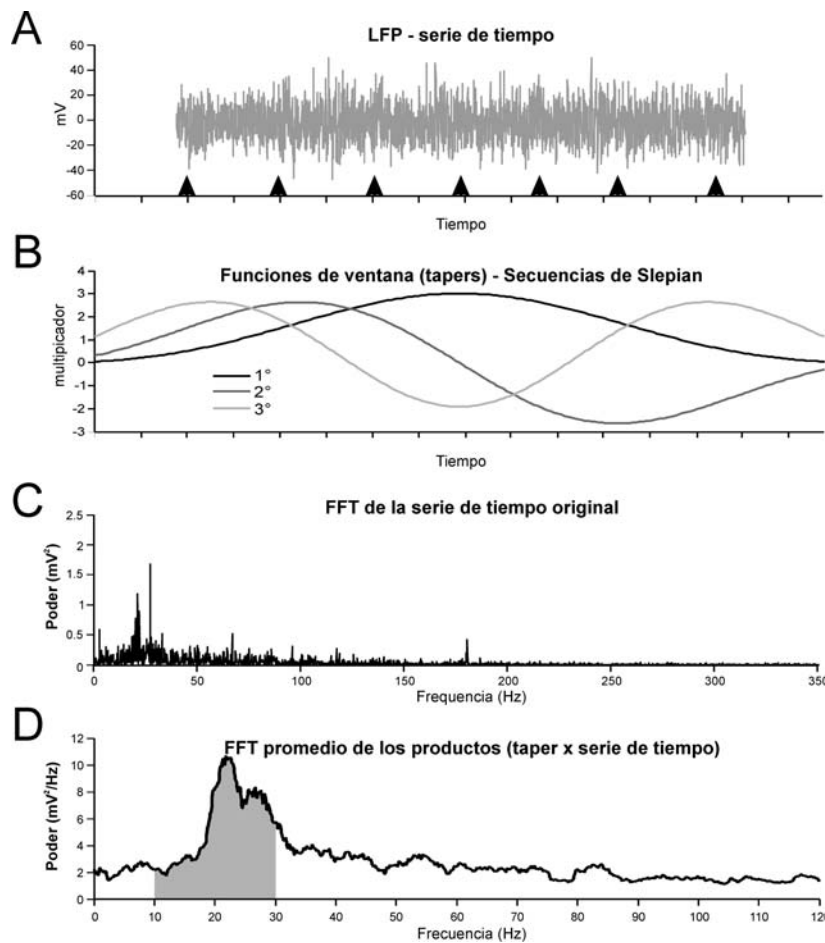
Todo el análisis espectral se realizó utilizando algoritmos implementados en MATLAB®. Los algoritmos utilizadas se encuentran enlistadas en el Apéndice A de esta tesis, y el código se incluye en un CD que acompaña a este escrito. Además, los nombres de las funciones utilizadas para realizar cada paso descrito en esta sección se citan en versalitas entre corchetes, por ejemplo [FUNCION.M]. La buena calidad de los registros (ver Figura 3.1) nos permitió realizar los análisis sobre la señal cruda, no se observan artefactos y el ruido de línea fue siempre bajo o ausente y se pudo eliminar por normalización (ver sección 4.4.2) sin necesidad de ningún tipo de filtrado.

### 4.4.1 Estimación de los componentes espectrales.

Los potenciales de campo local (LFP's por sus siglas en inglés) de cada sitio de registro fueron sometidos a análisis espectral. El objetivo principal del análisis espectral es descomponer una señal en una serie infinita de ondas sinusoidales de diferentes frecuencias (componentes espectrales) cuya suma es la señal que se está analizando. Los parámetros de cada componente espectral son: frecuencia, amplitud y fase relativa. La Transformada de Fourier nos permite realizar esta descomposición y estimar la amplitud y fase de la serie de componentes espectrales de diferentes frecuencias. La transformada de Fourier convierte una función continua de tiempo  $V(t)$  en una función de frecuencia  $S(f)$ . En otras palabras, proporciona una representación de una señal utilizando sus componentes espectrales. De modo que los valores de la transformada de Fourier son números complejos, que representan los coeficientes de cada componente espectral ordenados por su frecuencia (en orden creciente) y tienen información sobre su amplitud y su fase relativa. La transformada de Fourier también puede aplicarse a funciones discretas de tiempo, empleando la Transformada Discreta de Fourier (TDF), que provee una aproximación de la transformada de Fourier a partir de una señal finita. Un algoritmo comúnmente utilizado para calcular la TDF se conoce como Transformada Rápida de Fourier (FFT por sus siglas en inglés). Cada valor que devuelve corresponde a un componente espectral y a un dato en la señal, de modo que la transformada es igualmente finita. Usualmente, la amplitud del componente espectral se cuantifica como el valor absoluto del número complejo que lo representa, a esta cantidad se le llama "poder". Es conveniente señalar que la FFT presenta simetría conjugada, con el componente espectral de mayor frecuencia situado en su punto medio. La frecuencia de este



componente es determinada por el Teorema de muestreo de Nyquist-Shannon, que enuncia que para poder reconstruir una señal continua a partir de una señal discreta, constituida por muestras tomadas periódicamente, se requiere que la frecuencia de muestreo sea por lo menos del doble de la máxima frecuencia contenida en la señal (Mitra y Bokil, 2008). En sentido inverso, esto implica que frecuencias mayores a la mitad de la tasa de muestreo no pueden ser reconstruidas a partir de la señal discreta. Por consecuencia, la frecuencia de muestreo es un factor limitante en la aplicación de la FFT.



**Figura 4.2.** Análisis espectral utilizando multi-tapers. **A.** Trazo del Potencial de Campo Local registrado durante la ejecución de un ensayo de la tarea de Sincronización-Continuación. El eje horizontal es el tiempo (500ms/división) y las flechas negras indican el momento en el que el animal presionó el botón. **B.** Funciones de ventana (*tapers*). La señal a analizar se multiplica por cada una de las ventanas antes de aplicar la FFT. Se muestran las 3 primeras funciones de Slepian. **C.** Periodograma derivado de la aplicación de la FFT de manera directa al trazo del LFP. **D.** Estimado espectral derivado de promediar las FFT aplicadas a las series de tiempo resultantes de multiplicar el LFP por cada una de las ventanas de Slepian. Nótese la mayor concentración del poder y la ausencia de picos estrechos en D con respecto a C. El área sombreada bajo la curva en D representa el poder integrado para una banda de frecuencias ( $\beta$ , 10-30 Hz)

Por otro lado, la FFT presenta ciertos inconvenientes. Cuando se aplica directamente se obtiene un periodograma (Figura 4.2C), en el que se representa el poder de los diferentes componentes espectrales de la señal. Se asume que cada coeficiente de la transformada representa la amplitud

y la fase de la correspondiente frecuencia componente de manera confiable. Esto no necesariamente es cierto, debido al sesgo por ancho de banda y al ruido no estacionario presente en la señal. Para sobrellevar estas limitaciones, empleamos el método de multi-tapers (Thomson, 1982) implementado en el paquete Chronux 2.0 (Mitra y Bokil, 2008). El método de multi-tapers (del inglés *taper* – ventana) reduce dramáticamente el sesgo y se obtiene un estimado confiable del espectro de poder, a la vez que se maximiza la concentración del poder espectral en un rango de frecuencias determinado.

Un ejemplo de esto lo podemos observar en la Figura 4.2C-D, en la que se compara el periodograma con un estimado espectral obtenido utilizando multi-tapers. El poder tiene una varianza alta entre diferentes frecuencias, lo que le da una apariencia de “pasto”, y se dispersa a lo largo de una serie de Fourier matemáticamente infinita (fuga espectral), los estimados espectrales con multi-tapers tienen menor varianza, con un perfil más liso, y el poder se concentra en un rango de frecuencias definido por las características de las ventanas. Para obtener este estimado, la señal se multiplica por una serie de ventanas, conocidas como secuencias de Slepian (Figura 4.2B) que se construyen a partir de un esferoide prolato. Estas secuencias tienen la propiedad de ser ortogonales entre sí, de modo que al obtener estimados espectrales del producto de la señal por cada una de las ventanas utilizadas, cada una de estas mediciones puede considerarse independiente, estadísticamente, y puede utilizarse para obtener un estimado del poder espectral en la señal. Los parámetros que definen las secuencias de Slepian son: 1) la duración (tamaño) de la señal, 2) el ancho de banda dentro del que se hará la estimación. El segundo parámetro es de consideración, ya que homogeniza el poder espectral dentro de una banda de frecuencias del ancho especificado, de modo que cuando se quiere analizar una banda estrecha, conviene fijar este parámetro en un valor suficientemente pequeño (e.g. si la banda de interés tiene un ancho de banda de 20Hz, no conviene fijar este parámetro en valores mayores de 10Hz), además, es conveniente usar pocas funciones ventana (no más de 3) en estos casos.

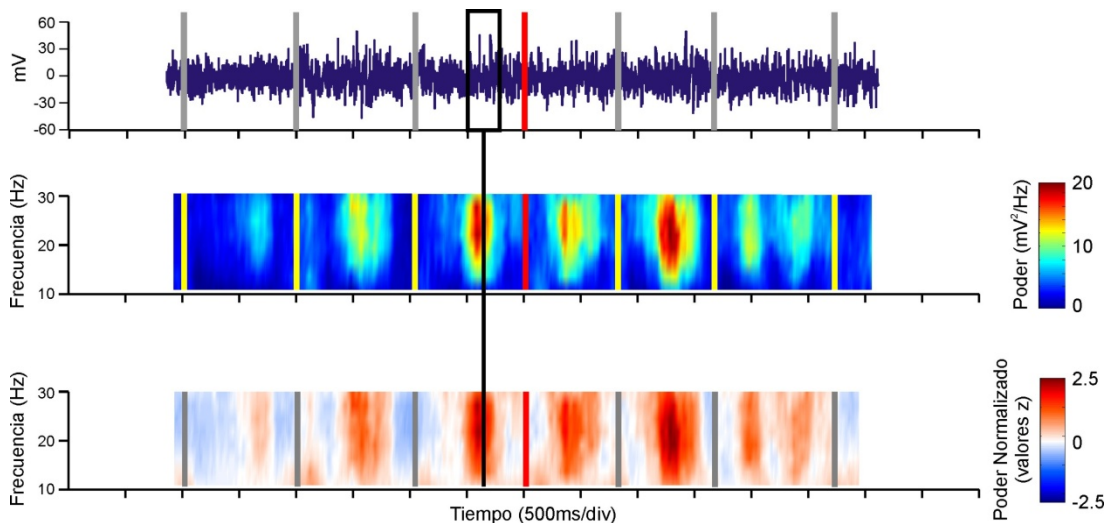
Una señal estacionaria se define como aquella cuyos parámetros generales pueden ser estimados en cualquier punto temporal, sin encontrar diferencias entre un momento y otro; dicho de otra forma, una señal estacionaria es aquella que no cambia a través del tiempo, de modo que un estimado espectral de la señal completa describe bien su comportamiento. Sin embargo, cuando

la señal es “no estacionaria”, un estimado espectral de la señal completa resulta poco informativo. Una manera de resolver este problema es hacer estimaciones en diferentes puntos temporales, lo que normalmente se lleva a cabo empleando ventanas deslizantes, que no se deben confundir con las funciones ventana (en adelante, para evitar confusiones, me referiré a las funciones ventana por su nombre en inglés – *tapers*). Una ventana deslizante va tomando segmentos secuenciales de una señal de tamaño (duración) definido. El centro de la ventana se mueve a intervalos definidos, usualmente llamados “pasos”, de modo que los diferentes segmentos secuenciales pueden tener cierto grado de superposición. De este modo, la ventana recorre toda la señal tomando segmentos que son usados para estimar los parámetros espectrales en diferentes momentos y así construir un espectrograma (Figura 4.3 – Panel Superior), en el que se muestra el poder de los diferentes componentes espectrales a través del tiempo. Esto permite identificar y caracterizar cambios, o modulaciones, de los componentes de frecuencia de la señal.

Para el análisis de los LFP, es claro que lo apropiado es tratarlos como señales no estacionarias. Construimos espectrogramas en los que graficamos el poder en función de la frecuencia y del tiempo utilizando la función [MAKESPECTROGRAM3.M]. Para realizar las estimaciones espectrales, fijamos el parámetro de ancho de banda para los *tapers* en 10Hz. El tamaño (duración) de la ventana deslizante fue ajustado con base en el límite de la banda de frecuencias de interés. Para la banda beta ( $\beta$ , 10-30Hz) el tamaño de la ventana deslizante se fijó en 300ms, de modo que una ventana pudiera contener 3 oscilaciones de la frecuencia más baja de la banda (10Hz) con el propósito de obtener estimaciones espectrales robustas. Para la banda gamma ( $\gamma$ , 30-80Hz), el tamaño de la ventana se redujo a 200ms (6 oscilaciones a 30Hz), tratando de mejorar la resolución temporal del espectrograma. Dado que el ancho de banda es menor para  $\beta$  que para  $\gamma$ , se usó solo el primer *taper* de Slepian para las estimaciones espectrales de  $\beta$ , mientras que para  $\gamma$  se usaron 3 *tapers* de Slepian. Como se explicó anteriormente, este ajuste se utilizó para evitar un alisamiento excesivo del poder espectral dentro de la banda  $\beta$ , que es estrecha en relación al parámetro de ancho de banda utilizado para diseñar los *tapers* de Slepian. Cabe señalar que, en el caso de  $\beta$ , se pudieron haber utilizado otro tipo de *tapers*, por ejemplo un *taper* tipo Hanning (derivado de la Función de Hann), que proporciona una buena resolución espectral en bandas estrechas y disminuye la fuga espectral sin alisar demasiado el perfil del espectro de poder. De hecho, se obtuvieron resultados similares cuando los análisis fueron hechos utilizando

el primer *taper* Slepian o un *taper* Hanning, razón por la cual se decidió utilizar el *taper* Slepian para la banda  $\beta$ , en congruencia con el procedimiento empleado para  $\gamma$ .

Una manipulación comúnmente utilizada tiene que ver con el hecho de que la eficiencia del algoritmo de la FFT es mayor para señales cuyo número de muestras es una potencia de 2. Esta manipulación consiste en rellenar con ceros el número de muestras que restan para que el número de muestras de la señal sea una potencia de 2 (en inglés se conoce como “*zero-padding*”) sin afectar la determinación de los coeficientes de la FFT en segmentos alejados del borde entre señal y ceros. Aunque nosotros no utilizamos esta manipulación, viene al caso mencionarla, ya que un procedimiento análogo fue utilizado para alinear la señal de diferentes ensayos.



**Figura 4.3.** Espectrogramas crudos y normalizados. **Panel Superior:** Señal cruda de un LFP. **Panel Central:** Espectrograma crudo para frecuencias de 10-30 Hz de la señal mostrada en el panel superior. El poder espectral se expresa en código de color como indica la barra a la derecha del panel. **Panel Inferior:** Espectrograma del poder normalizado y expresado como valores de la distribución normal ( $Z$ ) con respecto a la media y SD de todo el registro. Las barras verticales (amarillas o grises) indican el momento en que el animal golpeó el botón. La barra roja indica el último golpe de la fase de sincronización. La caja negra en el panel superior representa una ventana de 300ms que se desliza a lo largo de la señal y cuyos componentes espectrales se representan en los paneles central e inferior.

#### 4.4.2 Alineación y normalización de los espectrogramas.

Se construyeron espectrogramas ensayo por ensayo (funciones **[GETMEANSPECTRUM3.M]** y **[MAKENORMALIZEDSPECTROGRAM3.M]**). Sin embargo, dada la estructura y naturaleza de la tarea, ocurre que entre ensayos la duración de los intervalos inter-golpes al botón es variable, por lo que fue necesario segmentar la señal de ensayos individuales para poder construir espectrogramas promedio. Tomando la señal del LFP desde 150ms antes del primer golpe de botón, hasta 150ms después del último, se procedió de la siguiente manera: segmentos de la señal registrada cada ensayo, que abarcaban el intervalo entre 2 golpes consecutivos al botón, se alinearon al segundo golpe, de modo que obtuvimos 5 segmentos de 5 duraciones que varían dentro de un margen (ver sección Conducta, más arriba). Se obtuvo la mediana de esas 5 duraciones, de modo que 2 de los ensayos fueron más cortos, otros 2 fueron más largos y 1 tenía la duración mediana. Los segmentos de duración mayor a la mediana fueron recortados en su porción inicial, mientras que los de duración menor fueron rellenados con ceros. Este relleno con ceros no afecta las estimaciones espectrales, como se mencionó antes. Posteriormente, se reconstruyó la señal completa de cada ensayo utilizando los segmentos recortados o rellenados, de modo pudimos obtener espectrogramas de duraciones iguales y con la misma alineación para todos los ensayos.

Este procedimiento fue repetido para todos los ensayos y para todas las combinaciones de duración y modalidad, así se obtuvo la media y la desviación estándar (SD por sus siglas en inglés) del poder espectral en todas las condiciones y todas las frecuencias de la banda de interés ( $\beta$  ó  $\gamma$ ). Utilizando estos parámetros como base, los espectrogramas fueron normalizados convirtiendo los valores de poder espectral a valores de la distribución normal (*z-scores*) para cada banda por separado. Los registros con valores de  $z$  que rebasaran 1.96 (equivalente a  $p=0.05$ ) fueron considerados en análisis subsecuentes. Un ejemplo de un espectrograma normalizado se muestra en la Figura 4.3.

Además de alinear los espectrogramas con los golpes al botón, también se hizo una alineación con los tiempos de los estímulos (de estímulos reales en la fase de sincronización y teóricos en la fase de continuación). Ambas alineaciones fueron análogas y se compararon los resultados obtenidos en ambos casos.

#### 4.4.3 Integración del poder espectral y caracterización de las modulaciones.

Para cuantificar las modulaciones del poder espectral, tanto para los espectrogramas alineados a los golpes al botón como los alineados a los estímulos, nuestra estrategia fue obtener una serie de tiempo que representara el poder espectral de la banda de interés para cada sitio de registro. Construimos estas series de tiempo a partir de los espectrogramas. El poder en cada una de las frecuencias que componen la banda  $\beta$  ó  $\gamma$  fue integrado en cada punto temporal del espectrograma utilizando la regla del trapecioide. Mediante la regla del trapecioide, obtenemos una aproximación del área bajo el espectro de poder en la banda con límites  $a$  y  $b$  en cada punto temporal aplicando la ecuación:

$$\int_a^b S(f)df \approx \frac{h}{2} \sum_{k=1}^N (S(f_k) + S(f_{k+1})) \quad (4)$$

Donde  $S(f)$  es el poder espectral en la frecuencia  $f$ ,  $h$  es la resolución de la estimación espectral (10Hz) y  $N$  es el número de puntos que componen la banda de frecuencias entre  $a$  y  $b$ . En la figura 4.2D, el área sombreada representa el poder integrado de la banda  $\beta$ . De este modo, obtuvimos series de tiempo del poder integrado como el que se muestra en la Figura 3.3B (sección resultados).

Una vez que obtuvimos las series de tiempo del poder espectral integrado, calculamos nuevamente la media y la SD para ese sitio de registro considerando todas las series de tiempo de todas las condiciones de modalidad y duración. Se fijó un umbral igual a la media+SD para detectar cambios en el poder espectral integrado. Los periodos en que el poder integrado rebasara ese umbral y se mantuviese por encima de él durante un mínimo de 50ms fueron considerados modulaciones válidas. Una modulación válida debía cumplir, además, con un criterio de consistencia entre ensayos, de modo que para que fuera considerada para análisis subsecuentes debía presentarse en un mínimo de 3 ensayos.

Los valores promedio de las modulaciones válidas fueron ordenados en una matriz de 6 columnas  $\times$  25 filas, en la que cada fila corresponde a 1 ensayo (5 duraciones  $\times$  5 ensayos) y cada columna corresponde a un elemento de la secuencia de intervalos de la tarea de Sincronización-Continuación. Las modulaciones fueron asignadas al elemento de la secuencia en el que se encontró el punto medio de la modulación. Cuando en un elemento no se presentó una modulación válida, su sitio en la matriz fue ocupado por el valor promedio de la serie de tiempo en el intervalo y ensayo correspondiente. Esta matriz fue llamada “Tabla de Modulaciones”, y se construyeron 4 por cada sitio de registro: una por cada banda de frecuencias ( $\beta$  ó  $\gamma$ ) y una para cada modalidad sensorial (auditiva o visual). Todo este procedimiento se encuentra en la función [SPECTRAL TUNING4.M].

#### 4.4.4 Análisis de coherencia.

Con el objetivo de cuantificar el nivel de asociación de la actividad de pares de registros realizados simultáneamente, llevamos a cabo un análisis de coherencia. La coherencia es una cantidad compleja, que se deriva del espectro cruzado de dos señales, y es dada por la relación:

$$C_{ij} = \frac{S_{ij}}{\sqrt{S_i S_j}} \quad (5)$$

Donde  $S_i$  es el espectro de la señal  $i$ ,  $S_j$  es el espectro de la señal  $j$ ,  $S_{ij}$  es el espectro cruzado  $real(S_i) \times imag(S_j)$  de ambas señales y  $C_{ij}$  es la coherencia entre las señales. Dado que la coherencia se calcula a partir de estimados espectrales, es también una función de la frecuencia, al igual que los espectros, y contiene información sobre el grado de asociación entre el par de señales así como sobre la diferencia de fase entre ambas. La magnitud de la coherencia, definida como  $abs(C_{ij})$ , mide el nivel de asociación entre las señales, tomando valores de 0 a 1, de modo que si obtenemos la magnitud de la coherencia para dos señales idénticas, su valor será 1 para todas las frecuencias. La fase de la coherencia, definida como  $atan2(imag(C_{ij}), real(C_{ij}))$ , es el ángulo de fase, en radianes, entre los pares de componentes espectrales, de modo que la fase de la coherencia de dos señales idénticas será 0 para todas las frecuencias. Se utilizó la función [MAKECOHEROGRAMSEGMENT.M].

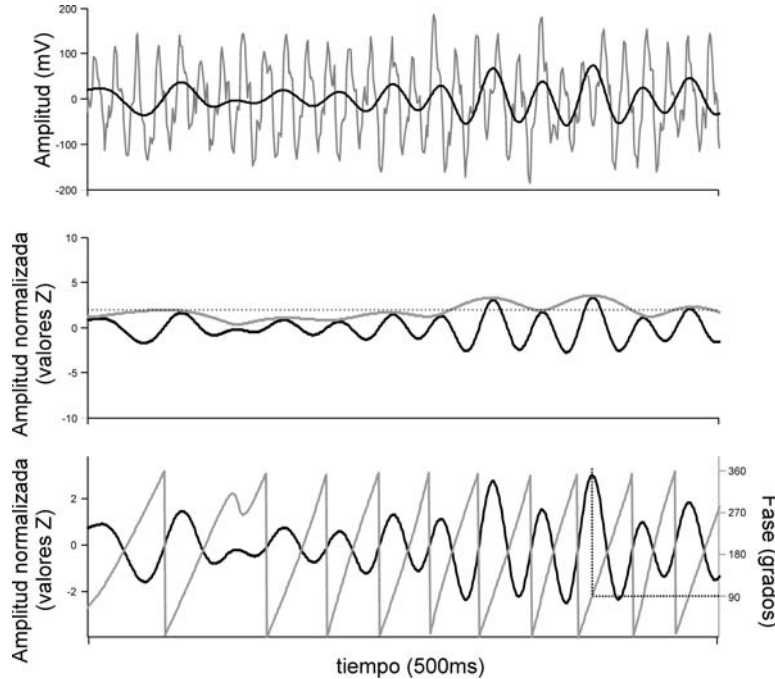
## 4.5 Análisis de la relación de fase entre potenciales de acción y potenciales de campo

Para determinar si los potenciales de acción ocurren preferentemente en una fase particular de la actividad oscilatoria, lo que indica una relación funcional entre ambas señales, procedimos de la siguiente manera.

La señal cruda del LFP fue filtrada (pasa bandas) para la banda  $\beta$  ó  $\gamma$ . Se utilizó un filtro digital de respuesta finita al impulso (Finite Impulse Response – FIR) evitando la distorsión de fase implementado en MATLAB (Figura 4.4, Panel Superior). Los trazos filtrados fueron normalizados a valores  $Z$  en función de la media y desviación estándar del trazo completo.

Obtuvimos la representación analítica de la señal filtrada y normalizada utilizando la transformada de Hilbert. En términos simples, la señal analítica es una representación de una señal real  $V(t)$  mediante una función  $H(V)(t)$  en el espacio de los números complejos, en la que la parte imaginaria es la misma señal desplazada hacia adelante en el dominio del tiempo. Esta manipulación matemática permite calcular la envoltura de la señal (*envelope* - curva que describe las modulaciones de amplitud de las oscilaciones) dada por  $\sqrt{real(H)^2 + imag(H)^2}$  (Figura 4.4,

Panel Central), así como la fase instantánea  $\phi = \text{atan2}(\text{imag}(H), \text{real}(H))$  de la oscilación en cada punto de la señal (Figura 4.4, Panel Inferior) utilizando las funciones [MAKEPHASEANALYSIS.M] y [GETINSTANTPHASE.M].



**Figura 4.4.** Obtención de la fase instantánea de la señal. **Panel Superior:** Trazo del LFP crudo (gris) y trazo después de aplicar un filtro pasa bandas (negro) sin distorsión de fase. **Panel Central:** Trazo filtrado y normalizado (negro) y envoltura de la señal (gris) obtenida utilizando la señal analítica (transformada de Hilbert). La línea punteada indica el umbral de 1.96 unidades de SD. **Panel Inferior:** Trazo filtrado normalizado (negro) y fase instantánea de la señal (gris) obtenida a partir de la señal analítica. La fase de 90° fue asignada al pico de la señal como lo indican las líneas punteadas.

La envoltura fue utilizada para identificar periodos de actividad de gran amplitud, definidos como periodos en los que la envoltura rebasó un umbral de 1.96 (unidades de desviación estándar) y se mantuvo por arriba de él durante un tiempo equivalente a 3 ciclos de actividad oscilatoria (Howe et al., 2011). Una vez que se identificaron los periodos de gran amplitud se determinó el momento en el que alcanzó el pico (máximo). Se consideraron los potenciales de acción que ocurrieron en una ventana de 100ms alrededor del pico de actividad, y se determinó la fase de la actividad oscilatoria al momento en que ocurrió la espiga. Solo se tomaron en cuenta espigas de neuronas que alcanzaron una tasa de disparo superior a 5Hz.

Se utilizó estadística circular para analizar los datos de fase utilizando la rutina [GETBURSTSPIKES.M]. La prueba de homogeneidad de Rayleigh nos sirvió para determinar si las espigas ocurrieron preferentemente en alguna fase de las oscilaciones. Cuando la prueba de Rayleigh arrojó resultados significativos ( $p < 0.05$ ), la media circular se usó para determinar la fase promedio en la que ocurrieron las espigas. Se construyeron histogramas en roseta para ilustrar la distribución de fases de las espigas de la población de neuronas positivas en la prueba de Rayleigh con la rutina [PLOT\_RESULTANTVECTOR\_HIST.M]. El mismo procedimiento se empleó utilizando las fases de oscilaciones  $\beta$  y  $\gamma$ , por separado.



## 4.6 Análisis estadístico

### 4.6.1 Clasificación de los patrones de respuesta de las modulaciones de los LFPs.

El primer paso en el tratamiento de los datos arrojados por el análisis espectral fue clasificar los patrones de respuesta con base en la distribución de las modulaciones en las bandas  $\beta$  y  $\gamma$ . La prueba de homogeneidad de  $\chi^2$ , incluida en la rutina [CATMODULATIONPATTERN.M], se empleó para identificar sitios de registro con un patrón de respuesta sensorimotor, es decir, con modulaciones que ocurrieron en cada uno de los intervalos inter-golpe para todos los intervalos probados ( $P > 0.05$ ). Los sitios de registro con respuestas sensorimotoras fueron excluidos de análisis subsecuentes.

El siguiente paso fue determinar si la magnitud de las modulaciones cambió en función de la duración del intervalo blanco o de la estructura secuencial de la tarea. Con este fin, en la rutina [LFP\_ANOVA.M], sometimos las Tablas de Modulaciones a la prueba de Friedman, una variante no paramétrica del análisis de varianza bifactorial, para determinar si hubo un efecto significativo de la duración del intervalo blanco o de la estructura secuencial, de manera separada.

Para determinar patrones de respuesta en función de la estructura secuencial, los casos en los que Friedman detectó un efecto significativo de este factor fueron clasificados utilizando un método de  $k$ -means. Se trata de un método de agrupamiento cuyo objetivo es segregar un conjunto de datos en  $k$  grupos, con base en la distancia euclídeana de cada uno de los datos con respecto a una serie de grupos esperados en un espacio  $n$ -dimensional. Es un método iterativo, que busca el mejor agrupamiento con base en la distancia euclídeana y la dispersión de los grupos en el espacio  $n$ -dimensional. Una implementación de este método (Johnson y Wichern, 1998) nos permitió particionar los LFPs en 13 grupos:

$$\begin{aligned}
\mu_1 &= (1,0,0,0,0,0) \\
\mu_2 &= (0,1,0,0,0,0) \\
\mu_3 &= (0,0,1,0,0,0) \\
\mu_4 &= (0,0,0,1,0,0) \\
\mu_5 &= (0,0,0,0,1,0) \\
\mu_6 &= (0,0,0,0,0,1) \\
\mu_7 &= (1,1,0,0,0,0) \\
\mu_8 &= (0,1,1,0,0,0) \\
\mu_9 &= (0,0,1,1,0,0) \\
\mu_{10} &= (0,0,0,1,1,0) \\
\mu_{11} &= (0,0,0,0,1,1) \\
\mu_{12} &= (1,1,1,0,0,0) \\
\mu_{13} &= (0,0,0,1,1,1)
\end{aligned}$$

Donde  $\mu_1$ – $\mu_6$  corresponden a los grupos que mostraron respuesta solo en uno de los 6 elementos de la secuencia,  $\mu_7$ – $\mu_{11}$  a los grupos con respuesta en 2 elementos consecutivos de la secuencia, y  $\mu_{12}$ ,  $\mu_{13}$  a los grupos con respuesta en la fase de Sincronización o Continuación, respectivamente. Esto lo realiza la rutina [**DISCRIMINATORMETHOD\_FORLFP\_LOOP\_RB.M**].

#### 4.6.2 Sintonización en las modulaciones de los LFPs.

Las Tablas de Modulaciones con efectos significativos de la duración del intervalo, o de la estructura secuencial, revelados por la prueba de Friedman, sirvieron como base para buscar sintonización a estos 2 parámetros utilizando los algoritmos en [**ENCODEINTERVAL.M**] y [**ENCODESEQUENCE.M**]. Este procedimiento se aplicó a Tablas de Modulaciones obtenidas a partir de espectrogramas alineados a los golpes al botón, y a las obtenidas de espectros alineados a los estímulos, de manera independiente.

Cada valor de la Tabla de Modulaciones fue la variable dependiente para una regresión no lineal, en la que la duración del intervalo, o el número de elemento en la secuencia de intervalos (S1, S2, etc.) fue la variable independiente para ajustar una función gaussiana

$$f(s) = he^{-\left(\frac{\|s, s_p\|}{k}\right)^2} \quad (6)$$

Donde  $f(s)$  es la magnitud de la modulación asociada al parámetro  $s$ ;  $k$  y  $h$  son los parámetros de dispersión y altura máxima, respectivamente,  $\|s, s_p\|$  es la distancia euclidiana entre  $s$  y  $s_p$ , y  $s_p$  corresponde al intervalo preferente, o al elemento preferente de la secuencia. El ajuste se realizó utilizando un algoritmo genético (Kuri-Morales, 2004).

Se calculó la  $R^2$  analizando los residuales (Draper y Smith, 1981) y la significancia estadística de la regresión se estimó mediante un ANOVA.

La dispersión de las curvas de sintonización se calculó a partir del parámetro  $k$ , determinando la amplitud de la curva a la mitad de su altura mediante la relación  $k_{50} = \sqrt{\ln 2k}$ .

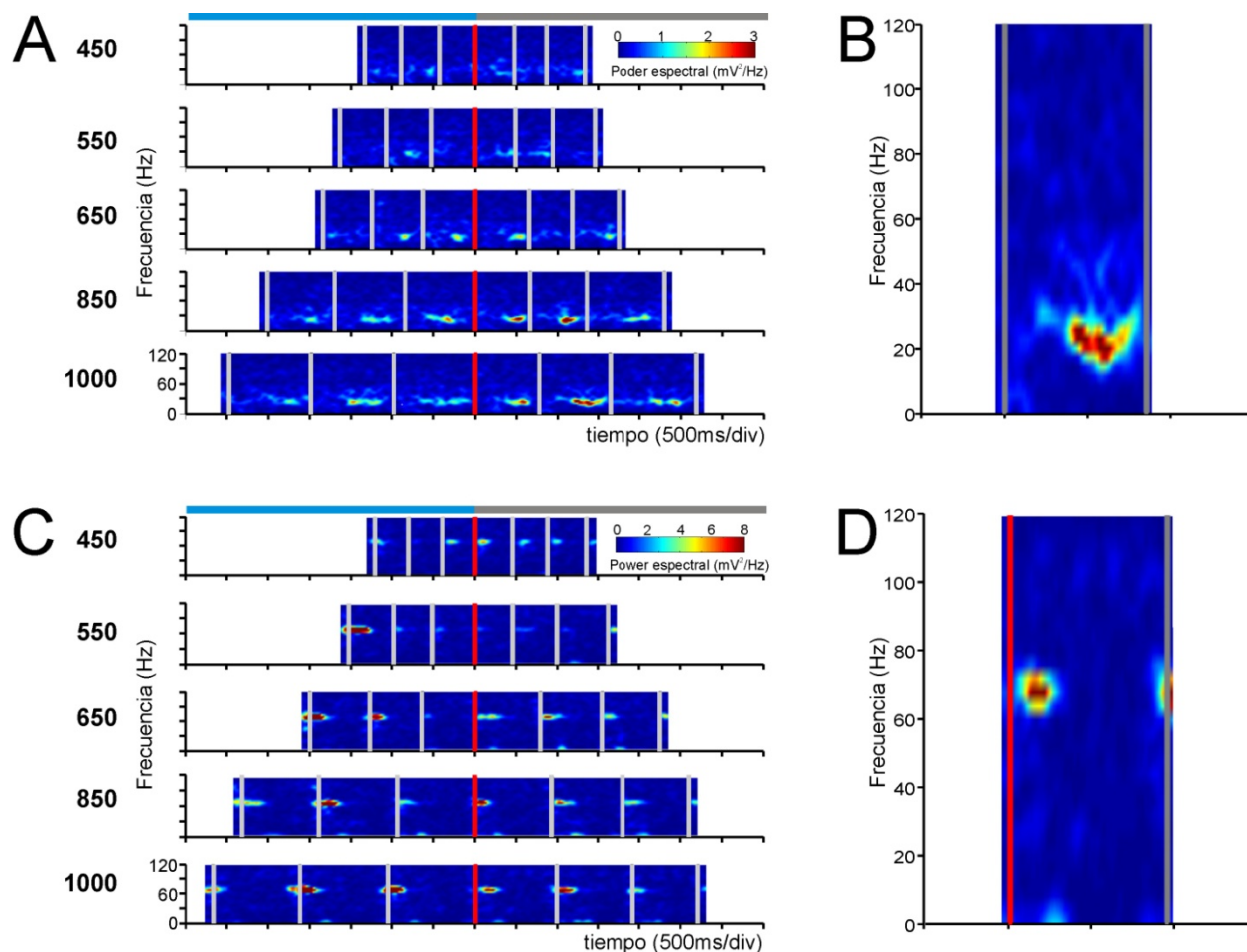
Los ajustes se hicieron para cada elemento de la secuencia por separado, para el caso de la sintonización a la duración, y para el caso de la sintonización a la estructura secuencial, se ajustaron curvas para cada duración por separado, para obtener los intervalos preferentes o el orden secuencial preferente, respectivamente.

Las curvas de sintonización con una  $R^2 > 0.15$  y  $P < 0.01$  fueron considerados como válidas. Se construyeron histogramas de la distribución de intervalos preferentes, y del orden secuencial preferente, para las bandas  $\beta$  y  $\gamma$ , y para las modalidades auditiva y visual, por separado. Se utilizaron las rutinas: `[GET_SIG_TUNINGDATA_INTERVAL2NDGENETICMETHOD.M]`, `[GET_SIG_TUNINGDATA_SEQUENCEFROMCLASSIFICATOR.M]` y `[GET_SIG_TUNINGDATA_SEQUENCE2NDGENETICMETHOD.M]`.

# Parte 5. Resultados

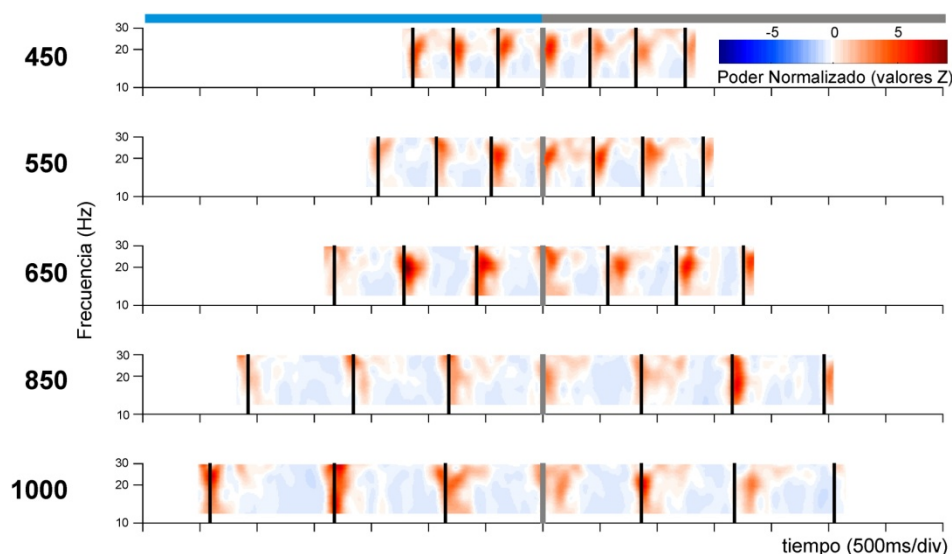
## 5.1 Sintonización en las modulaciones del poder espectral

Se analizaron un total de 285 registros de potencial de campo local. Espectrogramas que abarcaron frecuencias entre 5-120Hz revelaron claras modulaciones del poder espectral en las bandas  $\beta$  (10-30Hz) y  $\gamma$  (30-80Hz), como se observa en la Figura 5.1.



**Figura 5.1.** Espectrogramas crudos de Potencial de Campo Local (LFP). **A.** Espectrogramas de un sitio de registro en el que se encontraron modulaciones transitorias en el poder de oscilaciones  $\beta$ . Cada gráfico corresponde al poder promedio (en código de color) de 5 ensayos de la TIM en los que el animal produjo el intervalo que se indica a la izquierda (en milisegundos). **B.** Ampliación de un segmento del espectrograma para el intervalo de 1000ms que se muestra en A. El segmento corresponde al elemento secuencial C2. **C.** Espectrogramas de un sitio de registro en el que se encontraron modulaciones transitorias del poder de oscilaciones  $\gamma$ . Mismas convenciones que en A. **D.** Ampliación de un segmento del espectrograma para 1000ms que se muestra en C. El segmento corresponde al elemento secuencial C1. Modificado de (Bartolo et al., 2014)

Las modulaciones del poder espectral en tuvieron una duración de 159.3 y 159.5ms para las bandas  $\beta$  y  $\gamma$ , respectivamente. La mayor parte de los registros mostraron modulaciones cuya magnitud cambió significativamente (prueba de Friedman,  $P < 0.05$ ) en función de la duración del intervalo blanco, de la estructura secuencial de la tarea o de ambos factores (Tabla 1). Algunos sitios de registro mostraron respuestas sin efecto significativo de duración ni de secuencia. Solo una pequeña proporción mostró modulaciones que consideramos sensorimotoras (Figura 5.2) por tener una magnitud similar en todos los intervalos inter-golpe en todas las duraciones (prueba de  $\chi^2$ ,  $P > 0.05$ ). Vale la pena hacer notar que el número de registros con respuestas sensorimotoras fue mayor en la banda  $\gamma$  con respecto a la banda  $\beta$ , prácticamente duplicando la proporción ( $\beta$ A-3.57%,  $\beta$ V-3.84%,  $\gamma$ A-7.34,  $\gamma$ V-7.41).



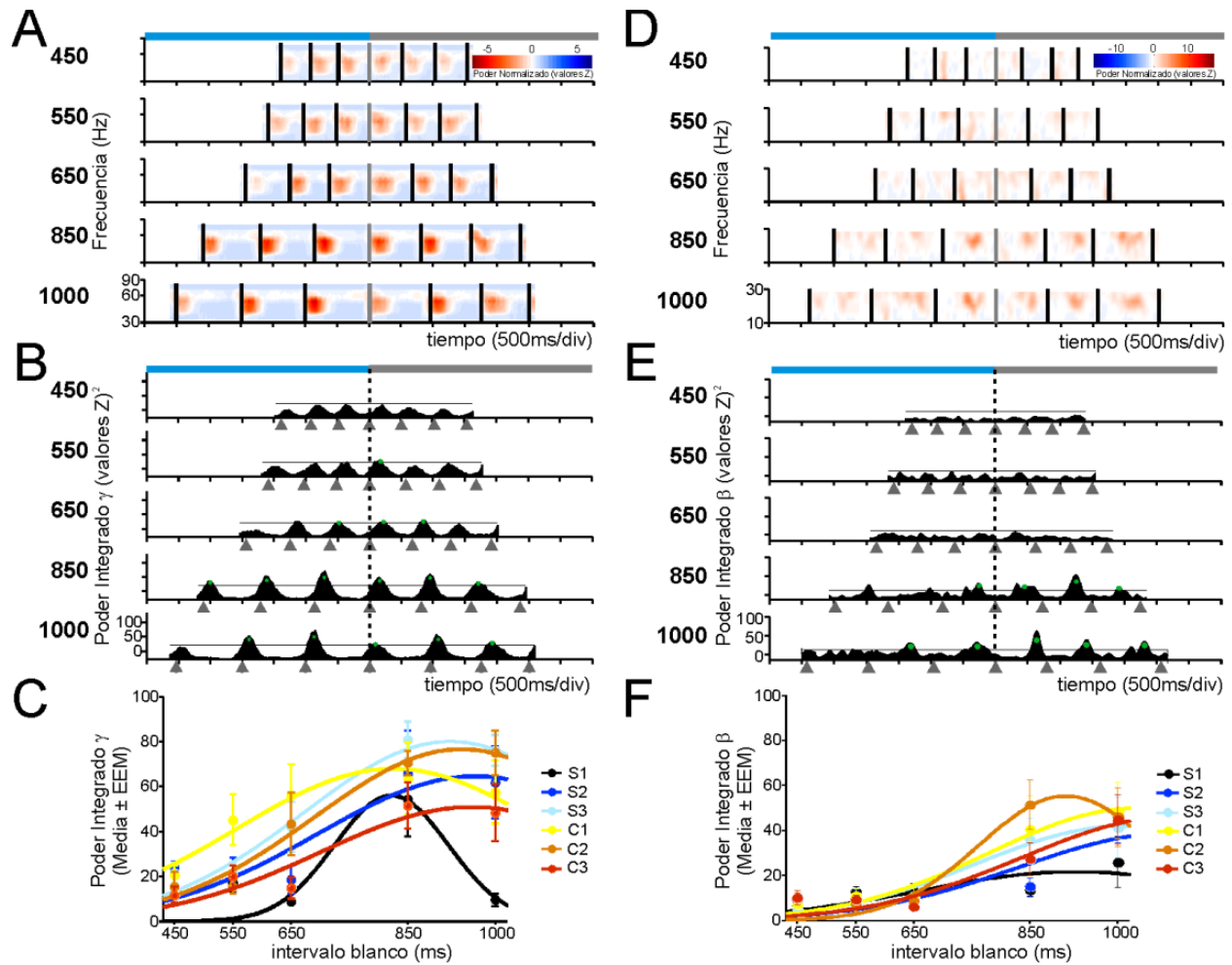
**Figura 5.2.** Espectrograma normalizado para la banda  $\beta$  que muestra un patrón de respuesta sensorimotor. Cada panel es un promedio de 5 ensayos de la tarea utilizando estímulos auditivos para delimitar el intervalo que se indica a la izquierda en milisegundos. Las barras verticales sobre los gráficos indican en momento en el que el animal presionó el botón, y la barra gris indica el último golpe al botón de la fase de sincronización. En código de color se indica el poder normalizado en valores Z con respecto a la media y SD de todo el registro.

	$\beta$		$\gamma$	
	A	V	A	V
Con modulaciones válidas	224	234	218	216
Duración	56	53	64	74
Secuencia	48	51	44	44
Duración y Secuencia	120	130	106	94
Respuestas sensorimotoras	8	9	16	16
Sin efecto	53	42	55	57
Total	285	285	285	285

**Tabla 1.** Número de LFPs con modulaciones válidas desglosadas con base en los efectos significativos revelados por la prueba de Friedman ( $P < 0.05$ ). Los LFPs marcados como Respuestas Sensorimotoras mostraron modulaciones similares en todas las duraciones y elementos de la estructura secuencial ( $\chi^2$ ,  $P > 0.05$ ).

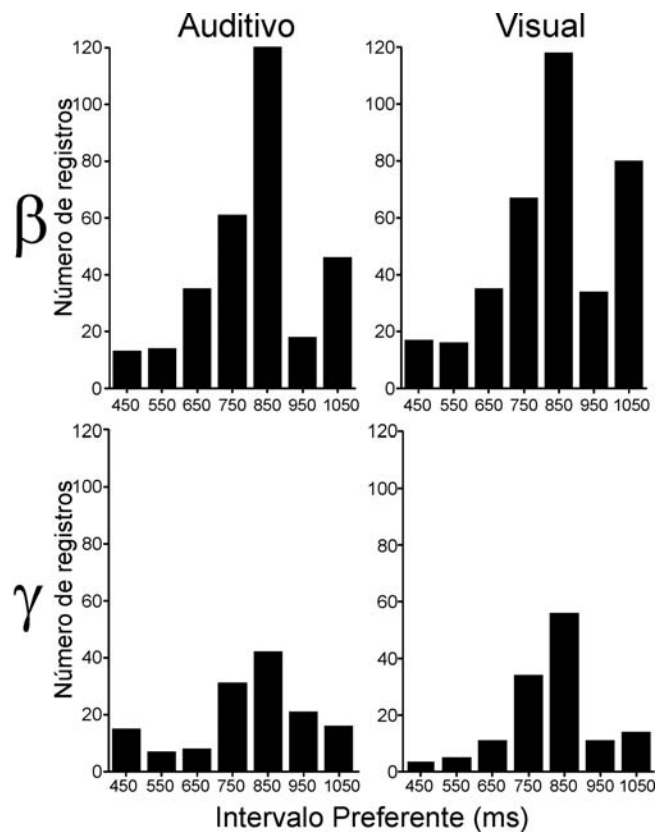
### 5.1.1 Sintonización a la duración del intervalo

A simple vista, algunos de los espectrogramas normalizados mostraban modulaciones del poder espectral cuya magnitud alcanzó un máximo cuando el animal produjo una duración preferente, decreciendo gradualmente conforme las duraciones blanco se alejaban de dicha duración. Este fenómeno de sintonización fue observado tanto en la banda  $\beta$  como en la banda  $\gamma$ . En la Figura 5.3A observamos un ejemplo de sintonización en la banda  $\gamma$ , se aprecian modulaciones distribuidas a lo largo de la secuencia de la tarea, pero su magnitud es mayor para los intervalos más largos, esto es más claro cuando observamos el poder integrado para dicha banda (Figura 5.3B). De hecho, al cuantificar la magnitud de las modulaciones (media por encima del umbral), encontramos que su comportamiento puede ser descrito por funciones gaussianas en los diferentes elementos de la secuencia. (Figura 5.3C). Utilizando las gaussianas que tuvieron un buen ajuste a los datos (ver Métodos) se calcularon los intervalos preferentes de los registros sintonizados y graficamos histogramas de su distribución (Figura 5.3).



**Figura 5.3.** Sintonización a la duración del intervalo. **A.** Espectrogramas normalizados en los que se aprecia un incremento graduado del poder de las modulaciones en función de la duración del intervalo. Mismas convenciones que en la Figura 5.1. **B.** Serie de tiempo del poder integrado de la banda  $\gamma$ , calculado a partir del espectrograma en A. Los triángulos bajo el eje horizontal indican el momento en el que ocurrió un golpe al botón. La línea punteada horizontal indica el umbral para considerar una modulación como válida. Los puntos verdes señalan las modulaciones que cumplieron con los criterios. Las series de tiempo se alinean con el último golpe de la fase de sincronización (línea discontinua vertical). **C.** Ajuste de funciones gaussianas a los valores de magnitud de las modulaciones observadas en A y B. Se grafican las magnitudes de las modulaciones en función del intervalo blanco para cada elemento de la secuencia de la tarea (S1-C3). **D,E,F.** Lo mismo que en A,B,C pero para la banda  $\beta$ .

Resulta claro que la distribución es similar entre bandas ( $\beta$  y  $\gamma$ ) y entre modalidades sensoriales (Auditiva y Visual), sin embargo, es notorio que el número de registros significativamente sintonizados es mucho menor para la banda  $\beta$  en comparación con la banda  $\gamma$ . También salta a la vista que, si bien encontramos representados todos los intervalos entre 350 y 1100 ms, las distribuciones están sesgadas hacia intervalos largos, y presentan un pico alrededor de 850ms (medianas en ms: Aud $\beta$ – 822.6, Vis $\beta$ – 822.1, Aud $\gamma$ – 819.7, Vis $\gamma$ – 822). Estos resultados indican que el putamen contiene una serie de circuitos neuronales que oscilan en frecuencias  $\beta$  o  $\gamma$  cuando se producen intervalos de tiempo de duraciones específicas en el rango de cientos de milisegundos. Estos circuitos constituirían una representación neuronal de un rango amplio de duraciones, si bien esa representación no es homogénea. A su vez, esta distribución no homogénea podría ser un indicador de una sobrerrepresentación de los intervalos con duraciones alrededor de 850ms.



**Figura 5.4.** Distribución de los intervalos preferentes de registros con modulaciones sintonizadas a la duración separados por banda de frecuencias y modalidad sensorial.

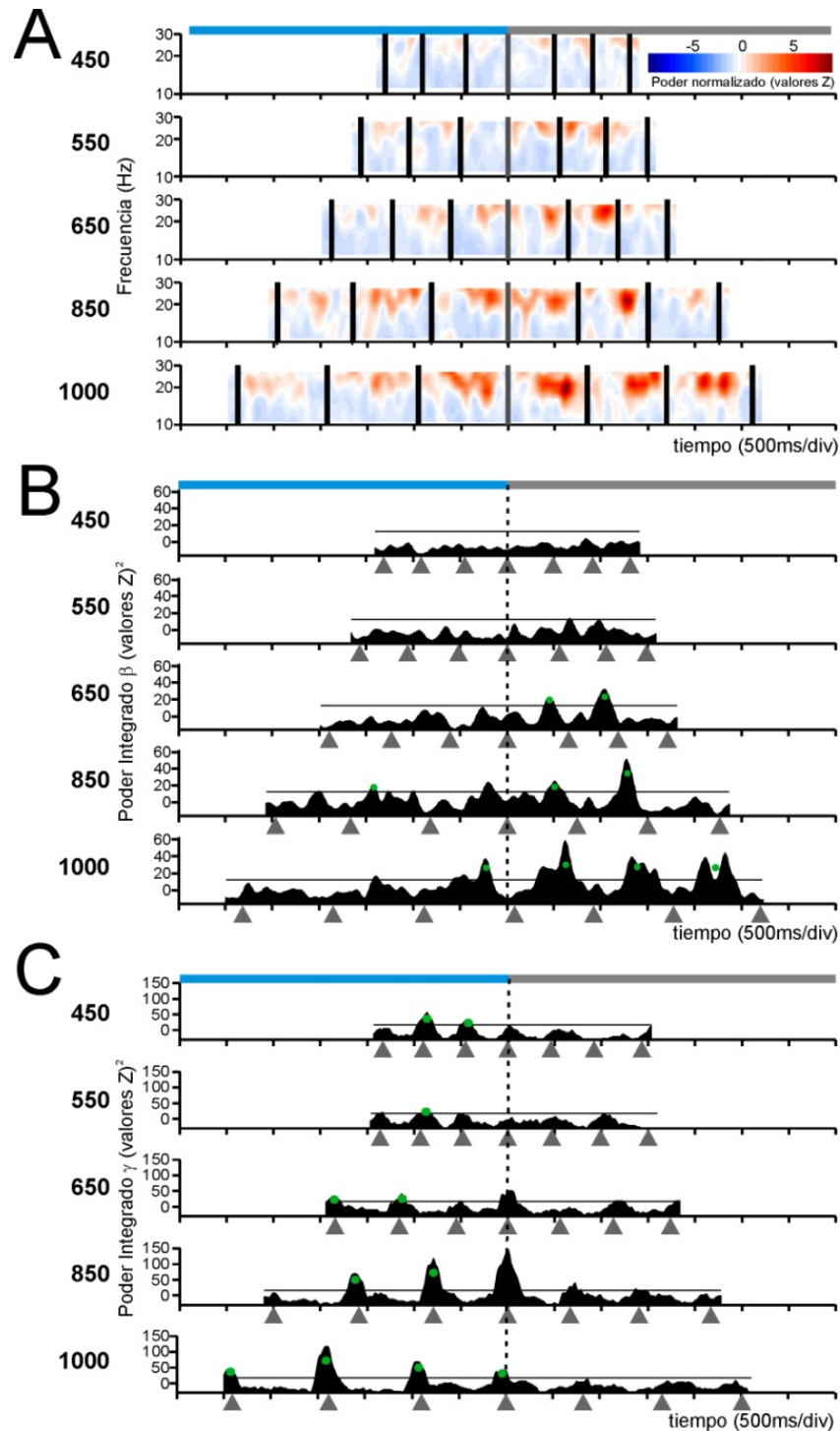


### 5.1.2 Sintonización a la estructura secuencial de la tarea

En adición a la sintonización al intervalo, una gran proporción de los LFP's mostraron un fenómeno de sintonización en el dominio de la estructura secuencial de la tarea de Sincronización-Continuación (Tabla 2), confirmando que la actividad relacionada al orden secuencial descrita en los ganglios de la base (Kermadi y Joseph, 1995; Mushiake y Strick, 1995) se presenta durante esta tarea. En la Figura 5.5A se observa el espectrograma para la banda  $\beta$  de un LFP, en el que se observan modulaciones que incrementan su magnitud para los intervalos más largos, como ocurre el ejemplo de la Figura 5.3, pero además se observa que la magnitud de las modulaciones es mayor para intervalos de la fase de continuación de la tarea. Esto es más claro en la Figura 5.5B De la misma manera en la que se caracterizó la sintonización a la duración, se ajustaron funciones gaussianas en el dominio de la estructura secuencial para cada intervalo por separado. Encontramos que, como se observa en la Tabla 2, la mayoría de los registros mostraron sintonización tanto a la duración como al elemento de la estructura secuencial, aunque también hubo registros que solo tuvieron sintonización a la secuencia. Vale la pena señalar que la sintonización a la secuencia fue encontrada particularmente en la banda  $\beta$  (Figura 5.5B), relativamente pocos registros de LFP mostraron sintonización a la secuencia o a la secuencia/duración en la banda  $\gamma$  (Figura 5.5C). Además, esto sugiere una intensa interacción entre duración y estructura secuencial, lo que serviría como base para la organización de una secuencia de movimientos que deben ser temporalizados con precisión.

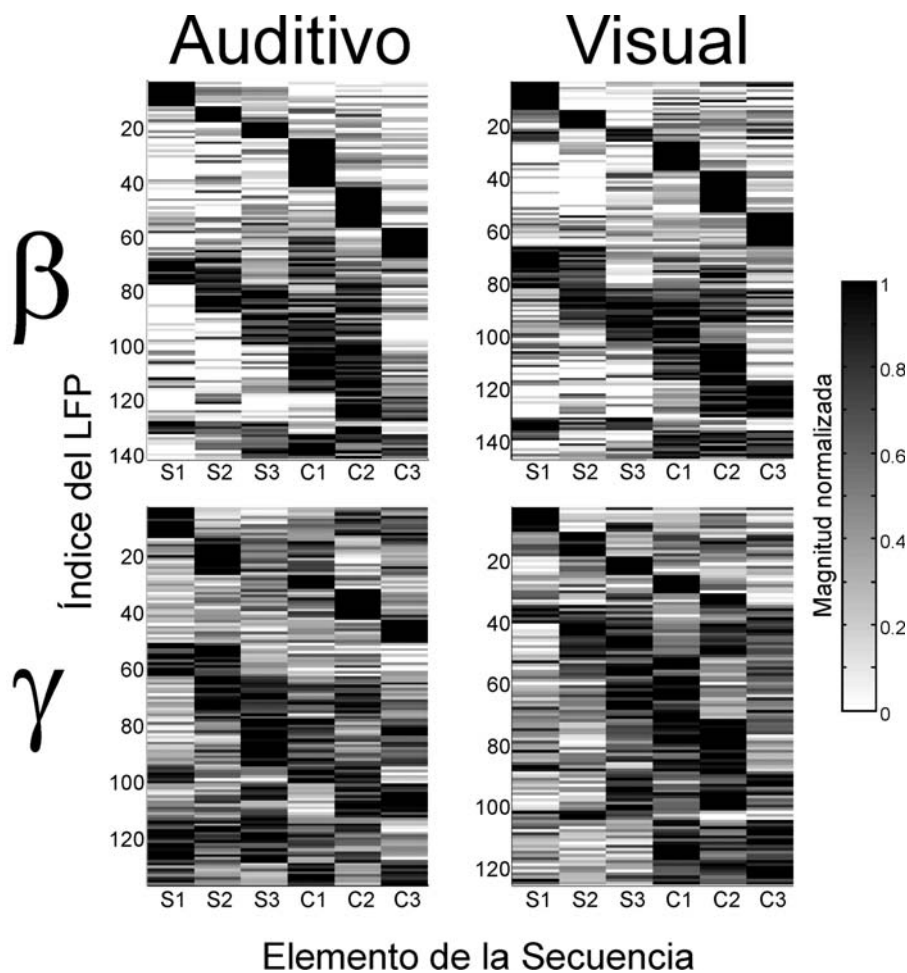
Modalidad	Duración		Secuencia		Duración y Secuencia	
	Auditiva	Visual	Auditiva	Visual	Auditiva	Visual
$\beta$	79	98	25	39	73	68
$\gamma$	51	54	4	8	18	17
$\beta$ y $\gamma$	38	31	1	6	4	6

**Tabla 2.** Número de LFP's con modulaciones espectrales significativamente sintonizadas a la Duración del intervalo blanco, al número de elemento en la Secuencia de la tarea y a la combinación de ambos factores. Se muestran los conteos para cada modalidad sensorial por separado y para cada una de las bandas. Se muestra además el número de registros que presentaron modulaciones sintonizadas en las dos bandas.



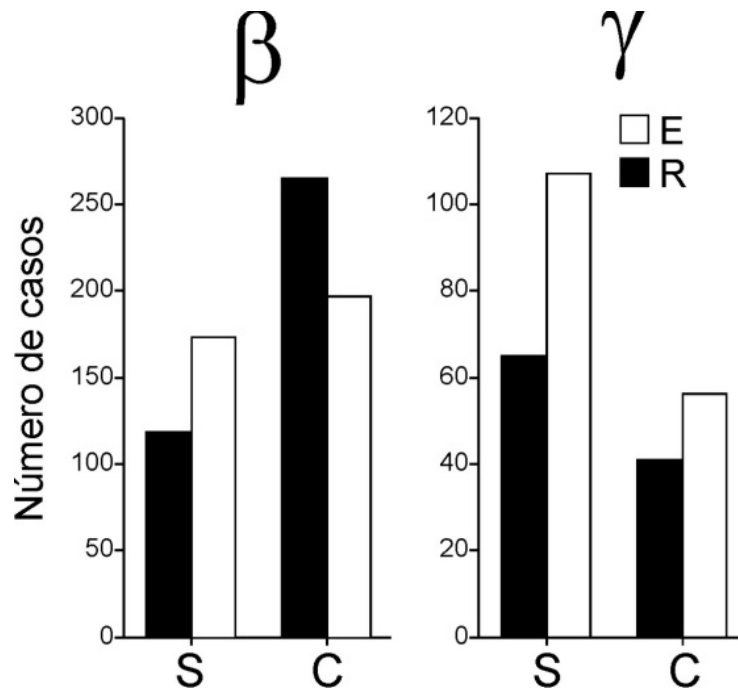
**Figura 5.5.** Doble sintonización a duración y estructura secuencial. **A.** Espectrogramas normalizados para la banda  $\beta$  de un LFP. Se observan modulaciones que cambian su magnitud en función de la duración y el número de elemento en la secuencia, mostrando modulaciones mayores para intervalos largos y elementos de la fase de Continuación. Mismas convenciones que en la figura 5.1 y 5.2A. **B.** Series de tiempo del poder integrado de la banda  $\beta$  obtenidas de los espectrogramas en A. Mismas convenciones que en la Figura 5.3B. **C.** Series de tiempo del poder integrado en la banda  $\gamma$  de otro registro de LFP, mostrando modulaciones de mayor magnitud en intervalos largos y en elementos de la fase de Sincronización. Mismas convenciones que en B.

Se clasificaron los patrones de respuesta en los registros de LFP con efecto significativo de la estructura secuencial utilizando un algoritmo de clasificación por *k-means*. Los resultados de este proceso se muestran en la Figura 5.6. Los LFP's se clasificaron en grupos dependiendo de la magnitud de las modulaciones en cada elemento de la secuencia, y se formaron 2 categorías: A) Responsivos a Elemento: categoría en la que incluimos a los LFP's con modulaciones en 1 ó 2 elementos consecutivos; y otra categoría B) Responsivos a Contexto: en la que se incluyen los LFP's con respuestas distribuidas en el contexto de la fase de sincronización, cuando la conducta es guiada por estímulos externos, o en el contexto de la fase de continuación, cuando no hubo estímulos externos y el animal temporalizaba sus movimientos de manera interna.



**Figura 5.6.** Selectividad a la estructura secuencial de la tarea, ilustrada en matrices de clasificación de los registros con base en su patrón de respuesta. Se muestran los resultados del algoritmo de clasificación por *k-means* separados por banda y modalidad. En cada matriz, cada línea corresponde a un registro, y cada columna corresponde a un elemento de la secuencia de la tarea, donde S1-S3 son los elementos de la fase de Sincronización y C1-C3 los de la fase de Continuación. En tono de gris se muestra la magnitud normalizada de la respuesta. Los registros están ordenados con base en el patrón de respuesta esperado que mejor correspondía con los datos.

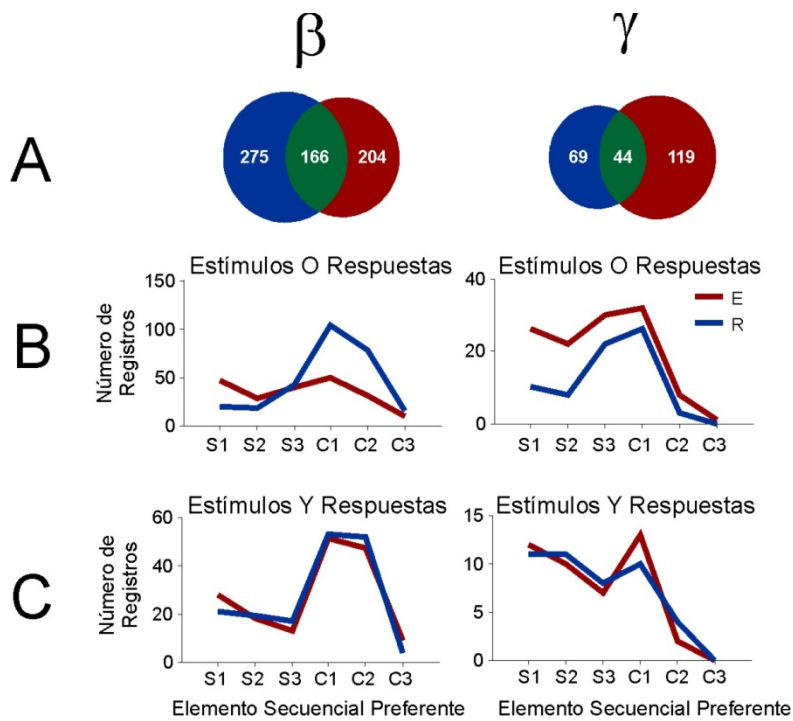
Se obtuvieron los elementos preferentes, a partir de las curvas de sintonización, de aquellos LFP clasificados como Responsivos a Elemento. Es interesante observar (Figura 5.7) que, en términos generales, la mayoría de las modulaciones  $\beta$  sintonizadas a la estructura secuencial, presentaron elementos preferentes con un sesgo significativo hacia la fase de continuación ( $\chi^2$ ,  $p < 0.001$ ). En contraste, las modulaciones  $\gamma$  sintonizadas a la secuencia presentaron elementos preferentes en la fase de sincronización ( $\chi^2$ ,  $p = 0.0016$ ).



**Figura 5.7.** Número de registros de LFP con modulaciones sintonizadas a la secuencia con elementos preferentes en la fase de Sincronización (S) o Continuación (C) para cada banda de frecuencias. Se muestran datos de las modalidades sensoriales Auditiva y Visual. Las barras negras o blancas se obtuvieron delimitando los elementos secuenciales con base en las respuestas (golpes al botón) o los estímulos, respectivamente.

Al desglosar esta distribución (Figura 5.8) podemos observar claramente que la mayor parte de los elementos preferentes para la banda  $\beta$  se ubican en los intervalos C1-C2. Para los elementos preferentes de las modulaciones  $\gamma$  el panorama es más complejo, mostrando un claro efecto de la modalidad sensorial: cuando se usaron estímulos auditivos los elementos preferentes presentaron un sesgo hacia la fase de sincronización, mientras que cuando se usaron estímulos visuales el

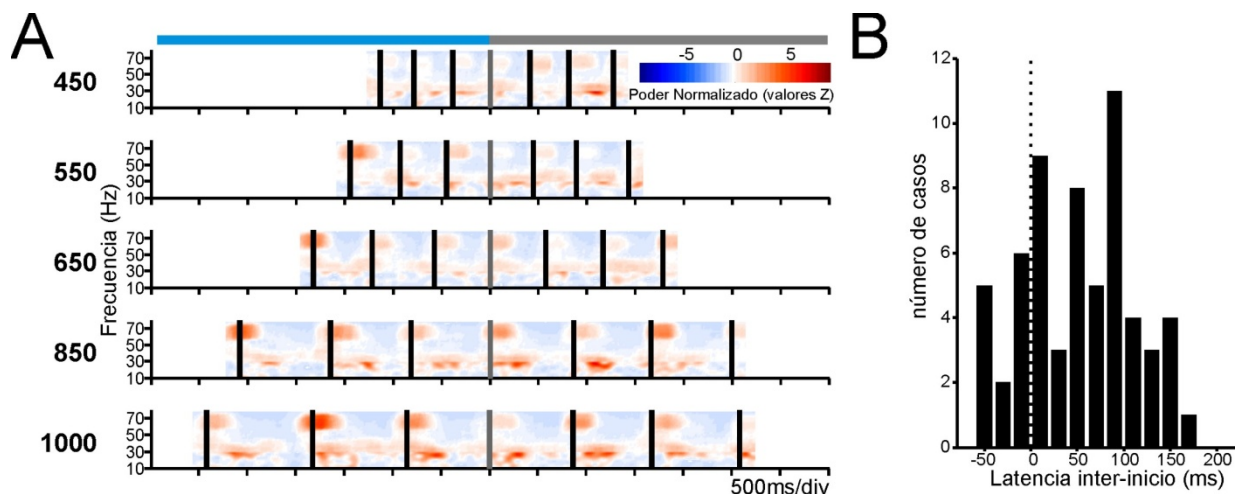
pico de la distribución se ubicó en la transición entre las fases de sincronización y de continuación. Esto sugiere que las oscilaciones en la banda  $\beta$  se pueden asociar a la implementación y temporalización interna de los movimientos rítmicos, mientras que las oscilaciones  $\gamma$  tienen un papel que se asocia más a la integración de la información sensorial disponible o a cambios en el contexto conductual.



**Figura 5.8.** Comparación de las Distribuciones de Elementos Secuenciales Preferentes para modulaciones de las bandas  $\beta$  y  $\gamma$  entre las alineaciones a los estímulos y a la secuencia. Los 6 elementos de la secuencia se indican en el eje horizontal, siendo S1-S3 elementos de la fase de Sincronización y C1-C3 elementos de la fase de continuación. Se muestran juntos los datos para las modalidades auditiva y visual.

### 5.1.3 Las modulaciones en la banda $\gamma$ preceden a las modulaciones en la banda $\beta$ en sitios con sintonización a la duración.

Si bien la mayoría de los LFP's sintonizados presentaron modulaciones exclusivamente en una banda de frecuencias, una fracción presentó modulaciones en las dos bandas estudiadas (Tabla 2). En estos casos, es notable que la mayor parte de las modulaciones en la banda  $\gamma$  precedieron a las modulaciones en la banda  $\beta$ , como se observa en el ejemplo de la Figura 5.9A., en el que la latencia promedio entre el inicio de la modulación  $\gamma$  y el inicio de la modulación  $\beta$  fue de 104.7ms. De hecho, en la Figura 5.9B se muestra un histograma de latencias inter-modulaciones, muy sesgado hacia valores positivos (latencia mediana = 55.02ms). Este resultado indica que algunos circuitos neuronales del putamen son capaces de oscilar inicialmente en la banda  $\gamma$ , para después cambiar rápidamente su configuración funcional y modular su frecuencia de oscilación hacia frecuencias  $\beta$ . Es probable que esta transición en la frecuencia de oscilación se deba al reclutamiento de células que inicialmente no formaban parte del ensamble neuronal, lo que concuerda con hallazgos previos que muestran que las oscilaciones  $\gamma$  en los ganglios de la base son generadas por circuitos muy localizados, mientras que las oscilaciones  $\beta$  se generan cuando circuitos grandes entran en actividad sincronizada (Howe et al., 2011; Leventhal et al., 2012).

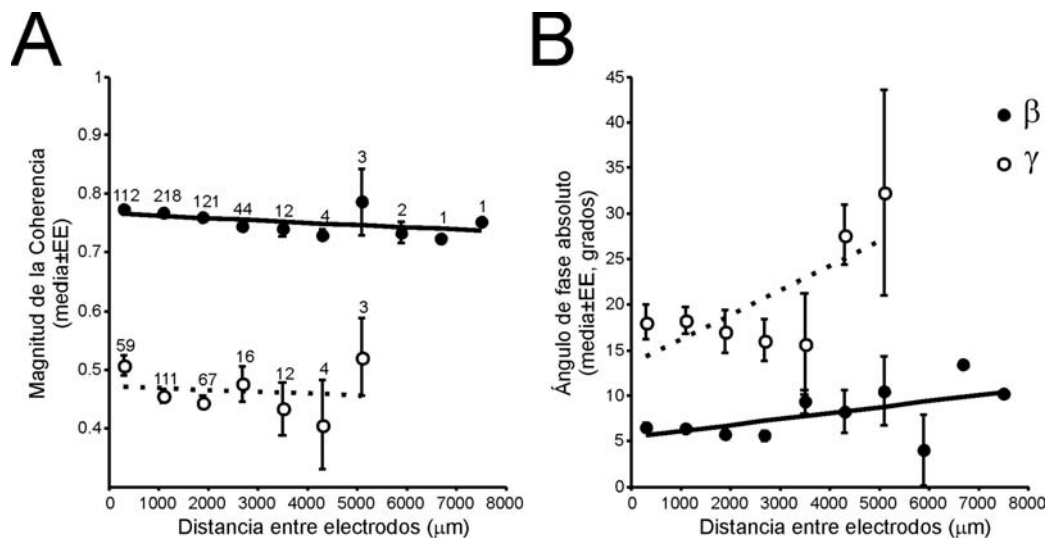


**Figura 5.9.** Actividad oscilatoria en diferentes bandas en un mismo sitio de registro. **A.** Espectrogramas normalizados en los que se observan modulaciones en la banda  $\gamma$  seguidas de modulaciones en la banda  $\beta$  en un LFP con modulaciones sintonizadas a la duración. **B.** Distribución de latencias entre el inicio de las modulaciones  $\gamma$  y el inicio de las modulaciones  $\beta$ .

## 5.2 Coherencia en la actividad oscilatoria entre sitios de registro

Como se explicó en la sección anterior, es posible que la actividad oscilatoria en la banda  $\gamma$  sea generada por circuitos pequeñas redes de neuronas del putamen, mientras que la actividad en la banda  $\beta$  sea el resultado de la actividad conjunta de circuitos extensos dentro del putamen. Para explorar esta idea, medimos el nivel de asociación entre registros de LFP realizados simultáneamente en distintos sitios. Para esto utilizamos la coherencia, que además nos permite calcular el ángulo de fase entre componentes espectrales coherentes.

Nuestro arreglo lineal de 7 electrodos nos permitió tener un estimado de la distancia entre los sitios de registro. Sabemos que la separación entre los electrodos es de  $300\mu\text{m}$ , y conocemos la profundidad a la que se colocó cada electrodo durante el registro, de modo que, además, se pudo relacionar la distancia entre los sitios de registro con la coherencia entre las señales de pares de electrodos.



**Figura 5.10.** Coherencia entre pares de LFP sintonizados y registrados simultáneamente. **A.** Magnitud de la coherencia para cada banda en función de la distancia entre electrodos. Las distancias fueron agrupadas en clases con un ancho de  $800\mu\text{m}$ . Los círculos llenos y vacíos muestran la magnitud media  $\pm$  Error Estándar, para las bandas  $\beta$  y  $\gamma$ , respectivamente. Los números sobre los círculos indican el número de pares de registros en cada clase de distancia. **B.** Ángulo de fase absoluto (media  $\pm$  E.E.) entre pares de LFP's en función de la distancia entre electrodos, para cada banda de frecuencias. Las líneas de tendencia para las bandas  $\beta$  (continua) y  $\gamma$  (punteada) se obtuvieron por una regresión lineal.

Encontramos que la magnitud de la coherencia fue mayor para la actividad  $\beta$  que para la actividad  $\gamma$ , y que hay una ligera tendencia a la baja en la magnitud de la coherencia en función de la distancia entre sitios de registro para las dos bandas (Figura 5.10A). Se aplicó un Análisis de Varianza (ANOVA) bifactorial para la magnitud de la coherencia, utilizando como factor categórico la banda de frecuencias y como factor continuo la distancia entre electrodos para un diseño completo (Full model) y no balanceado. El ANOVA reveló un efecto significativo de la banda ( $F_{1,768}=469.35$ ,  $p<0.0001$ ), de la distancia ( $F_{6,768}=5.3$ ,  $p<0.0001$ ), así como de la interacción banda $\times$ distancia ( $F_{6,768}=3.3$ ,  $p=0.0033$ ).

Por otra parte, el valor absoluto del ángulo de fase entre oscilaciones coherentes fue claramente mayor para las oscilaciones  $\gamma$  que para las oscilaciones  $\beta$ . Utilizando el mismo diseño de ANOVA, ahora para el ángulo de fase absoluto, reveló un efecto significativo de la banda ( $F_{1,756}=70.35$ ,  $p<0.0001$ ), la distancia entre electrodos ( $F_{6,756}=4.62$ ,  $p=0.0001$ ) y de la interacción banda $\times$ distancia ( $F_{6,756}=2.93$ ,  $p=0.0079$ ).

Estos resultados indican que las oscilaciones  $\beta$  fueron altamente coherentes y en fase entre sitios de registro separados por distancias de hasta 7.3mm, mientras que las oscilaciones en la banda  $\gamma$  mostraron poca coherencia entre sitios de registro y tendieron a desfasarse conforme la distancia entre electrodos se incrementó. En conjunto, esto es congruente con la idea de que las oscilaciones  $\gamma$  son generadas localmente por circuitos pequeños, mientras que las oscilaciones  $\beta$  son generadas por la actividad orquestada de grandes ensambles estriatales.

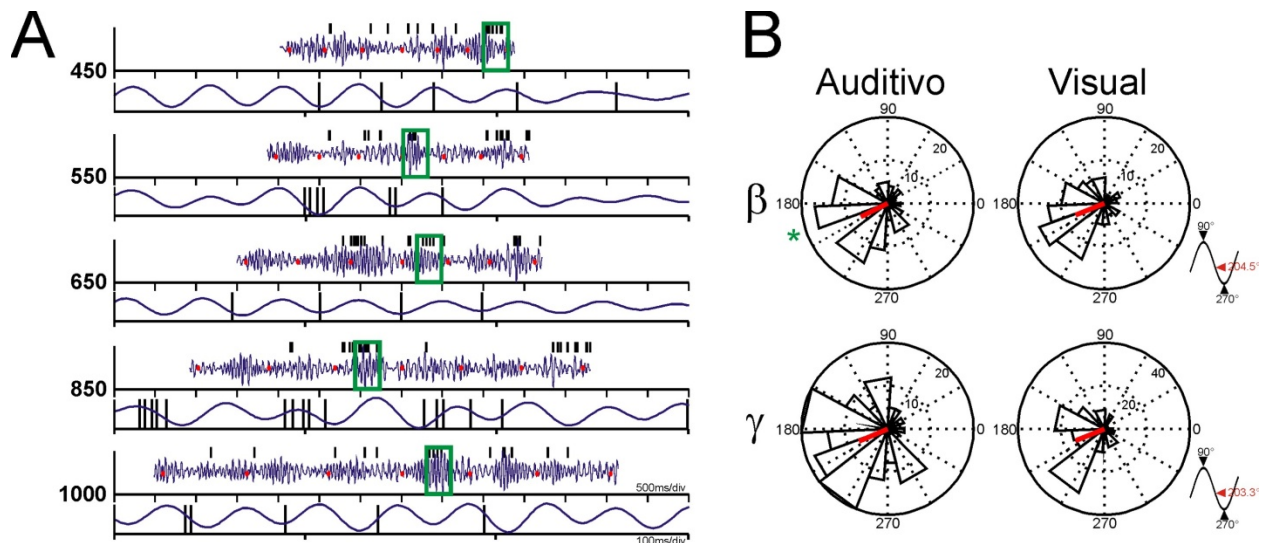
## **5.3 Relación entre actividad oscilatoria y potenciales de acción**

### *5.3.1. Relación de fase.*

En la sección 5.2 se ha mostrado que la actividad  $\beta$  puede extenderse en distancias grandes. Se asume que esto se debe a la participación de circuitos grandes, sin embargo, es necesario descartar la posibilidad de que dicha actividad no fuese en realidad generada por el circuito en el que se encuentra el electrodo, sino que pudiera ser conducida pasivamente por el medio extracelular.



La manera apropiada de descartar esta posibilidad es establecer una relación funcional entre la actividad de campo y la actividad neuronal unitaria (potenciales de acción) registrada en el mismo sitio. Con esta finalidad determinamos la relación de fase entre ráfagas de actividad oscilatoria de alta amplitud (valor  $Z > 1.96$ ) en las bandas  $\beta$  y  $\gamma$  por separado y la actividad de neuronas únicas registradas en el mismo sitio.



**Figura 5.11.** Relación de fase entre potenciales de acción de neuronas únicas y las oscilaciones en el LFP, registrados en el mismo sitio. **A.** Trazos filtrados y normalizados representativos (en azul) de un LFP y los potenciales de acción correspondientes (marcas negras sobre cada trazo) para diferentes intervalos blanco, donde los puntos rojos indican el momento en el que ocurrió un golpe de botón. Para cada intervalo, el panel superior muestra un ensayo completo, y en el panel inferior se muestra una vista detallada del segmento contenido en la caja verde (300ms) en donde se puede observar la relación de fase entre potenciales de acción y actividad oscilatoria. **B.** Histogramas de fase para neuronas con potenciales de acción significativamente agrupados en una fase particular (prueba de Rayleigh,  $p < 0.05$ ) de las oscilaciones  $\beta$  y  $\gamma$ , para cada modalidad. La línea roja en cada histograma es el vector resultante, indica la fase promedio para la población de neuronas registradas. Las sinusoides estandarizadas al lado de cada histograma muestran la localización de la fase promedio de las dos modalidades en un ciclo. El asterisco verde al lado del histograma para  $\beta$ -auditivo indica la fase promedio de los potenciales de acción de la neurona mostrada en A.

Después de filtrar la señal y normalizar la señal para cada una de las bandas, determinamos la fase de las oscilaciones en la que ocurrió cada potencial de acción (Figura 5.11A), y probamos si la distribución de ángulos de fase se concentraba en algún punto de la oscilación utilizando la prueba de Rayleigh ( $p < 0.05$ ). Encontramos que alrededor del 16% de las neuronas registradas ( $n=520$ ) tuvieron una relación de fase estable con la actividad oscilatoria en la banda  $\beta$ , proporción que casi se duplicó para las ráfagas de alta amplitud en la banda  $\gamma$ , alcanzando un valor del 27%. Cuando estas proporciones se calcularon utilizando solamente neuronas

registradas junto con LFP's que presentaron sintonización a la duración, a la secuencia, o a ambas ( $\beta$ A: n = 406,  $\beta$ V: n = 465,  $\gamma$ A: n = 160,  $\gamma$ V: n = 154), encontramos que la proporción se incrementó a  $\sim 42\%$  durante las ráfagas de actividad  $\beta$  (Aud- 41.63%, Vis- 42.15%) manteniéndose la proporción en valores similares durante las ráfagas de actividad  $\gamma$  (Aud- 42.85%, Vis- 43.95%).

La fase de la actividad oscilatoria en la que, en promedio, ocurrieron los potenciales de acción se mantuvo estable para las dos bandas de frecuencias (Figura 5.11B). La fase promedio para  $\beta$  fue de  $204.5^\circ$ , mientras que para  $\gamma$  fue de  $203.3^\circ$ , esto es, un poco antes de los valles de las oscilaciones ( $270^\circ$ ).

Estos resultados muestran una relación funcional entre la actividad oscilatoria de campo y la actividad de neuronas únicas registradas en el mismo sitio, reforzando la idea de que la actividad oscilatoria tiene un origen, o al menos un impacto, en la función de circuitos estriatales locales.

### *5.3.2. Sintonización a la estructura secuencial en neuronas únicas*

Como se menciona en la sección 5.1.2, ocurre un fenómeno de sintonización del poder de las oscilaciones en las bandas  $\beta$  y  $\gamma$  en función del orden de producción de intervalos en la tarea, siendo el poder mayor en determinados elementos de la secuencia, a los que se llamó elementos secuenciales preferentes. En trabajos anteriores de nuestro laboratorio, se encontró este mismo fenómeno de sintonización en la tasa de disparo de neuronas del área motora suplementaria. Habiendo encontrado sintonización en la actividad conjunta de grandes grupos neuronales (oscilaciones del LFP), y habiendo determinado que existe una relación funcional entre los potenciales de campo y los potenciales de acción, el siguiente paso es examinar la relación entre el procesamiento dentro de circuitos neoestriatales y la información que sale de estos circuitos en forma de potenciales de acción.

Para abordar esta cuestión, obtuvimos la función de densidad de espigas (kernel gaussiano, 30ms) de neuronas registradas en los mismos sitios que la actividad oscilatoria, y detectamos modulaciones en la tasa de disparo utilizando un análisis de ráfagas de Poisson (Merchant et al., 2001). Brevemente, este análisis detecta cambios estadísticamente significativos en la tasa de

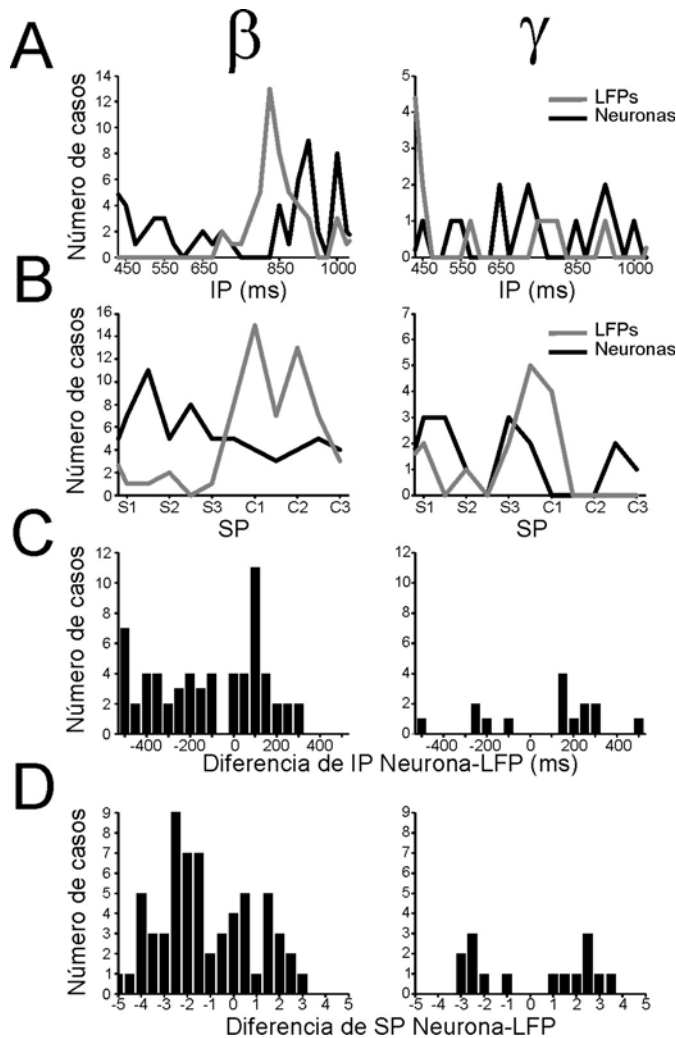
disparo con respecto a lo que se espera de un proceso aleatorio de Poisson. Siguiendo esta estrategia, y con base en los resultados del análisis de ráfagas de Poisson, construimos Tablas de Modulaciones de la tasa de disparo, análogas a las tablas de modulaciones del poder espectral descritas en la sección 4.4.3. Así, pudimos construir curvas de sintonización de la tasa de disparo, tanto en función de la duración del intervalo como del orden secuencial de la tarea, de manera similar a las curvas de sintonización del poder espectral.

	Duración			Secuencia		
	$\beta$	$\gamma$	$\beta/\gamma$	$\beta$	$\gamma$	$\beta/\gamma$
LFP's sintonizados	262	66	28	251	71	24
LFP sintonizado/Neurona no sintonizada	183	47	21	199	63	18
LFP sintonizado/Neurona sintonizada	37	11	5	39	6	4

**Tabla 3.** Número de LFP's sintonizados. Se muestran los números de LFPs en los que se registró simultáneamente, en el mismo sitio, actividad de neuronas aisladas.

Encontramos que, de 366 neuronas estriatales analizadas, 98 presentaron sintonización a la duración en la condición de estímulos auditivos, y 78 durante la condición de estímulos visuales. Por otra parte, se encontró sintonización a la estructura secuencial en 84 neuronas bajo la condición auditiva y en 80 bajo la condición visual. De los LFP's con modulaciones espectrales sintonizadas en la banda  $\beta$  o  $\gamma$ , una fracción presentó neuronas con modulaciones sintonizadas de su tasa de disparo (Tabla 3). En la Figura 5.12 se comparan las distribuciones de Intervalos Preferentes (IP) y Elementos Secuenciales Preferentes (SP) de neuronas sintonizadas en registros con modulaciones  $\beta$  o  $\gamma$  sintonizadas (paneles A y B), y se muestran también las diferencias entre los IP y SP de  $\beta$ - o  $\gamma$ - y neuronas sintonizadas (paneles C y D). Las distribuciones dejan ver una relación compleja entre las señales oscilatorias del LFP y la actividad de neuronas aisladas, sin embargo, podemos extraer las siguientes propiedades: 1) Más neuronas con sintonización a la duración se encontraron en conjunción con actividad  $\beta$  sintonizada, en comparación con  $\gamma$ , 2) las distribuciones de intervalos preferentes, tanto de oscilaciones  $\beta$  como de neuronas, están sesgadas hacia intervalos largos, sin embargo el pico de la distribución para las neuronas se encuentra en intervalos más cortos (825ms) en comparación con el pico de la distribución para la actividad  $\beta$  (900ms). De hecho, la distribución de las diferencias de intervalos preferentes entre  $\beta$

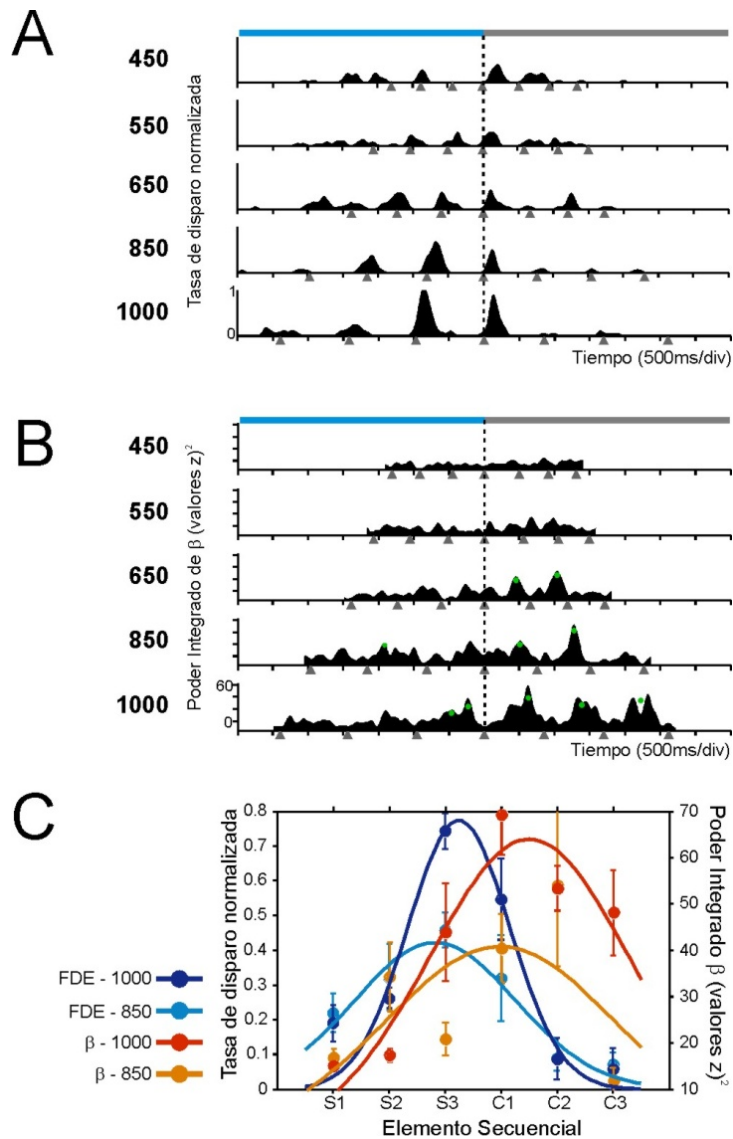
y neuronas (Figura 5.12C) está sesgada hacia valores negativos (mediana = -98ms). 3) La sintonización a la duración ocurrió de manera conjunta en oscilaciones  $\gamma$  y neuronas en pocos casos, en los que las propiedades de sintonización fueron similares entre las dos señales electrofisiológicas (prueba de  $t$ ,  $p=0.028$ ).



**Figura 5.12.** Comparación de las propiedades de sintonización de neuronas únicas y las oscilaciones en el LFP, registrados en el mismo sitio. **A.** Distribuciones de Intervalos Preferentes (IP) de las oscilaciones  $\beta$  (izquierda, línea gris),  $\gamma$  (derecha, línea gris), y las neuronas registradas simultáneamente en cada caso (línea negra). **B.** Distribuciones de Elementos Secuenciales Preferentes (SP). **C.** Distribución de las diferencias de IP entre Neurona y LFP. **D.** Distribución de las diferencias de SP entre Neurona y LFP.

Para el caso de la relación entre neuronas y actividad oscilatoria sintonizada a la estructura secuencial, se encontró que de la misma manera actividad  $\beta$  sintonizada está más estrechamente relacionada con la actividad neuronal sintonizada, en comparación con  $\gamma$ . Sin embargo, mientras la distribución de Elementos Secuenciales Preferentes (SP) de  $\beta$  presenta un notorio sesgo hacia la fase de continuación, la distribución de SP de las neuronas está sesgada hacia la fase de sincronización (Figura 5.12B). Las diferencias de SP entre oscilaciones  $\beta$  y neuronas presenta un

sesgo hacia valores negativos, corroborando que las modulaciones de la tasa de disparo de las neuronas precedieron a las modulaciones de la actividad  $\beta$  (Figura 5.12D). Este fenómeno es ilustrado en la Figura 5.13, en la que se compara el poder integrado de  $\beta$  y la función de densidad de espigas de una neurona registrada simultáneamente en el mismo sitio que el LFP. La asociación entre la actividad  $g$  y la tasa de disparo fue débil, como se mencionó. No obstante, cuando esta asociación se presentó, las propiedades de sintonización fueron similares entre ambas señales (Figura 5.12B, derecha).



**Figura 5.13.** Ejemplo de un registro simultáneo de actividad de una neurona aislada con sintonización y un LFP con actividad  $\beta$  sintonizada. **A.** Función de Densidad de Espigas (FDE) para una neurona estriatal. Cada gráfica muestra la tasa de disparo normalizada promediada para 5 ensayos para el intervalo que se indica a la izquierda. Los triángulos grises bajo los ejes horizontales indican el momento en el que el animal presionó el botón, y la línea punteada separa la fase de sincronización de la fase de continuación. **B.** Poder integrado de la banda  $\beta$  del LFP. Las mismas convenciones que en A. Los círculos verdes indican modulaciones válidas. **C.** Curvas de sintonización a la estructura secuencial para los intervalos de 850 y 1000 ms. Se compara la sintonización de la FDE con la sintonización de la actividad  $\beta$ .

## Parte 6. Discusión

---

En el presente trabajo, encontramos actividad oscilatoria en los potenciales locales de campo. La actividad oscilatoria de los LFP's presenta modulaciones transitorias de amplitud, en frecuencias de las bandas  $\beta$  y  $\gamma$ . La mayoría de los sitios de registro de LFP presentaron exclusivamente actividad  $\beta$  o  $\gamma$ , sin embargo, unos cuantos sitios presentaron actividad en ambas bandas de frecuencias, pero no de manera simultánea, sino que observamos que en esos sitios la actividad  $\gamma$  precede a la actividad  $\beta$ , lo que sugiere una transición rápida en el estado del circuito.

La magnitud de las modulaciones de la amplitud fueron mayores cuando el animal ejecutaba ensayos de una duración determinada, a la que llamamos intervalo preferente, o bien, en momentos específicos de la ejecución de cada ensayo de la tarea, en un elemento secuencial preferente. La magnitud de las modulaciones decrece gradualmente alrededor del intervalo preferente o del elemento secuencial preferente. Este proceso de sintonización se encontró en modulaciones tanto de la banda  $\beta$  como de la banda  $\gamma$ . Notablemente, lo más común fue que en el mismo sitio de registro de LFP, se presentara sintonización a la duración del intervalo y al elemento secuencial, lo que sugiere que ambas variables se codifican simultáneamente en la actividad de un microcircuito del putamen.

En la banda  $\beta$ , encontramos el mayor número de sitios de registro de LFP con actividad sintonizada a la duración del intervalo a producir. Todas las posibles duraciones dentro del rango estudiado (450-1000ms) están representadas en la distribución de intervalos preferentes, aunque con un notorio pico en intervalos de alrededor de 850ms. Las distribuciones de intervalos preferentes es similar para las bandas  $\beta$  y  $\gamma$ , aunque el número es menos para  $\gamma$ .

Por otro lado, se encontró una distribución diferencial de elementos secuenciales preferentes para cada banda de frecuencias. En los LFP's que presentaron actividad  $\gamma$  sintonizada a la secuencia, la distribución presentó un sesgo hacia elementos secuenciales de la fase de sincronización, fenómeno que se fue más notorio cuando los espectrogramas se alinearon a los estímulos. En contraste, para la banda  $\beta$ , la distribución de elementos secuenciales preferentes estuvo sesgada hacia elementos de la fase de continuación, en la que el animal producía intervalos de manera interna.

Es importante señalar que un grupo de neuronas estriatales presentó potenciales de acción en fase con la actividad oscilatoria  $\beta$  y  $\gamma$  del LFP. Además, el análisis de coherencia entre LFP's registrados simultáneamente y sintonizados al orden secuencial de la tarea mostró que la actividad  $\beta$  es coherente y en fase incluso entre sitios de registro distantes, mientras que, en contraste, la actividad  $\gamma$  mostró una coherencia más baja y un ángulo de fase que se incrementó de manera progresiva conforme se incrementó la distancia entre sitios de registro. Estos resultados son consistentes con la hipótesis de que sincronización de la actividad neuronal en la banda  $\gamma$  es utilizada para procesamiento local asociado a la entrada sensorial (procesamiento *bottom-up*), y que la sincronización en frecuencias de la banda  $\beta$  es utilizada para el acoplamiento de grandes regiones dentro del putamen, y probablemente de múltiples estructuras en el circuito de los ganglios de la base, para la ejecución de movimientos internamente generados (procesamiento *top-down*). Adicionalmente, encontramos que existe una relación compleja, pero consistente, entre la sintonía de la actividad  $\beta$  y la sintonía en los potenciales de acción.

### *6.1. Sintonización neuronal y sintonización en la magnitud de los LFP*

La sintonización neuronal es un mecanismo general para codificar información en el sistema nervioso central, sea sensorial, cognoscitiva o motora (deCharms y Zador, 2000). Tanto en neuronas de la corteza cerebral como en neuronas de estructuras subcorticales, la tasa de disparo alcanza un valor máximo ante un valor específico (valor preferente) de un atributo conductual en particular (p.e. la orientación de un estímulo, la dirección de un movimiento, la frecuencia de estimulación, etc.), y la tasa de disparo disminuye conforme el valor del atributo se aleja del valor preferente (Merchant et al., 2013b). Este fenómeno de sintonización, además de ser observado en la tasa de disparo de neuronas únicas, también se ha observado en el poder de la actividad oscilatoria de LFP's registrados en diversas regiones del cerebro para diversos atributos conductuales. Por ejemplo, se ha encontrado sintonización a la dirección de un movimiento en la corteza motora (Georgopoulos et al., 1982; Paninski et al., 2004) o la velocidad y dirección de estímulos visuales en el área MT de la vía ventral del procesamiento visual (Liu y Newsome, 2006) tanto en la tasa de disparo de neuronas únicas como en los LFP, sugiriendo un

acoplamiento funcional entre ambas señales. La sintonización en ambas señales suele presentar el mismo valor preferente, una explicación a esto es que el LFP emerge de la actividad de un grupo de neuronas sincronizadas con estímulos preferentes similares (Lashgari et al., 2012). Sin embargo, esta asociación no siempre es tan clara, ya que el LFP no depende solamente de la actividad neuronal en forma de potenciales de acción, sino que depende mayormente de factores como: flujos iónicos derivados de la entrada excitatoria (Potenciales Post-Sinápticos Excitatorios) e inhibitoria (Potenciales Post-Sinápticos Inhibitorios), la conectividad funcional del microcircuito que rodea al electrodo, la citoarquitectura del área de registro y la temporalidad de las fluctuaciones del potencial de membrana en el conjunto de neuronas (Buzsáki et al., 2012). A pesar de la complejidad inherente al origen de las señales de campo, es innegable que otras señales, además de los potenciales de acción, son una fuente importante de información sobre el procesamiento de diferentes aspectos de la conducta (Mehring et al., 2003; Schalk et al., 2007; Waldert et al., 2008; Zhuang et al., 2010).

## *6.2. Relación entre oscilaciones del LFP y los patrones de disparo de neuronas únicas*

En este trabajo, mostramos que las neuronas del putamen pueden disparar en fase con las oscilaciones, tanto en la banda  $\beta$  como en la banda  $\gamma$ , lo que indica que los patrones de disparo tienen relación con la actividad oscilatoria, y que la sintonización encontrada en el poder de las oscilaciones en los LFP's es, en consecuencia, generada a partir del procesamiento de información en el putamen.

Al examinar las propiedades de la sintonización en los LFP's y de neuronas registradas en el mismo electrodo, encontramos una clara relación entre ambas señales. La actividad oscilatoria  $\beta$  tuvo un nivel mayor de asociación con la actividad de neuronas únicas que codificaron la duración y el orden secuencial, en comparación con la actividad oscilatoria  $\gamma$ . La actividad sintonizada de neuronas únicas precedió a los cambios de poder sintonizados de  $\beta$ . Un fenómeno similar se ha observado en el sistema motor de monos, mientras estos realizan movimientos de alcance y prensión (Murthy y Fetz, 1996; Brown y Williams, 2005; Witham y Baker, 2012).

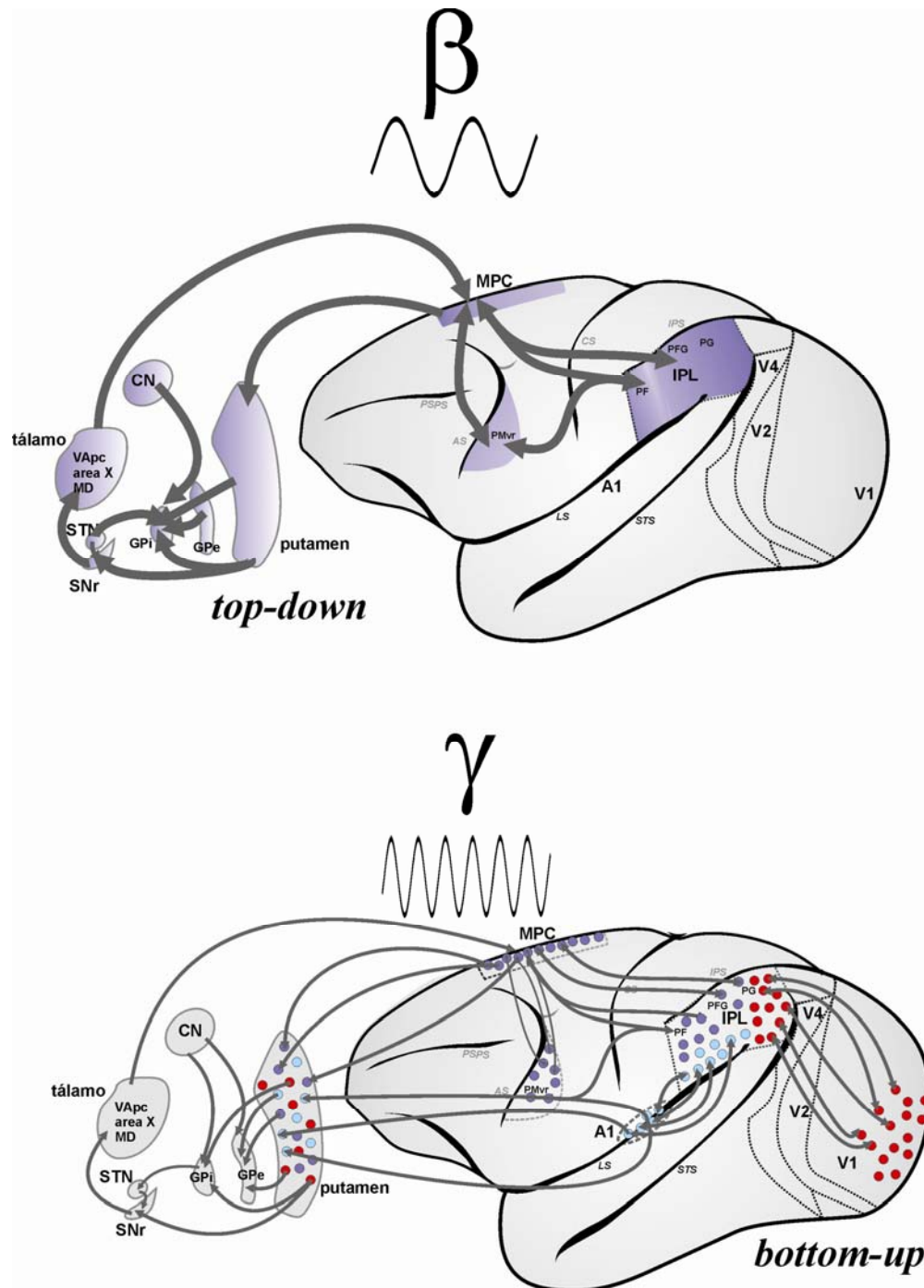


Encontramos actividad sintonizada en el disparo de neuronas aisladas, así como en la actividad oscilatoria en las bandas  $\beta$  y  $\gamma$ , lo que sugiere la existencia de circuitos que procesan duraciones específicas. Estos circuitos habían sido predichos a partir de estudios conductuales (Wright et al., 1997; Nagarajan et al., 1998; Bartolo y Merchant, 2009). Todas las duraciones probadas estuvieron representadas en el grupo de células registradas y en los diferentes sitios de registro de LFPs, sin embargo, la distribución de duraciones preferentes no es homogénea, sino que presenta un pico en intervalos de alrededor de 800ms. Esta distribución sesgada es similar a lo encontrado en neuronas sintonizadas a la duración en la corteza premotora medial (Merchant et al., 2013b). Este sesgo podría estar asociado a la existencia de una duración preferida por los macacos para la ejecución de movimientos temporalizados, de hecho, en humanos se ha identificado una distribución bimodal de duraciones preferidas en una tarea de golpeteo espontáneo, con picos alrededor de 250 y 450ms (Collyer et al., 1994), y un estudio reciente en chimpancés mostró que también tienen una duración preferida de alrededor de 600ms (Hattori et al., 2013).

Las neuronas del área motora suplementaria presentan respuestas que codifican al mismo tiempo la estructura ordinal y la temporalidad de una secuencia de movimientos rítmicos (Merchant et al., 2013b). Estudios independientes han reportado respuestas neuronales asociadas a la duración de intervalos o a la organización de secuencias de movimiento en el neocórtex (Kermadi y Joseph, 1995; Miyachi et al., 1997; Meck et al., 2008; Jin et al., 2009) y en el área motora suplementaria (Tanji y Shima, 1994; Mita et al., 2009). Además, pacientes con la enfermedad de Parkinson muestran deficiencias en la organización de secuencias motoras, y además en aspectos temporales del movimiento y en la percepción del paso del tiempo (Ferraro et al., 1993; Harrington et al., 1998; Helmuth et al., 2000; Merchant et al., 2008a). El área motora suplementaria está conectada con el putamen (Haber, 2003; Lehericy et al., 2004) y es un nodo crítico en el circuito premotor de los ganglios de la base (Parent y Hazrati, 1995; Middleton y Strick, 2000a). Los resultados presentados en esta tesis sugieren que la sintonización a la duración y al orden serial de manera simultánea es una estrategia de codificación de información utilizada a lo largo del circuito de los ganglios de la base para codificar la estructura temporal y secuencial de una serie de movimientos rítmicos.

### 6.3. Significado de la actividad oscilatoria en frecuencias de las bandas $\beta$ y $\gamma$

Oscilaciones  $\beta$  de amplitud anormalmente alta en nodos del circuito de los ganglios de la base son características de la enfermedad de Parkinson (Levy et al., 2002; Weinberger et al., 2009). El poder de las oscilaciones  $\beta$  se reduce en respuesta a tratamientos que también reducen la hipertonia muscular y bradicinesia (lentitud de los movimientos), como es el caso de terapia farmacológica con levodopa o agonistas dopaminérgicos (Brown et al., 2001; Levy et al., 2002) y de terapia por estimulación cerebral profunda (Kühn et al., 2008). La hipótesis actual es que la actividad  $\beta$  anormalmente alta que se encuentra en la enfermedad de Parkinson refleja una sobreestabilización de la actividad del circuito de los ganglios de la base, que resulta en la persistencia patológica de un estado motor (Hammond et al., 2007). En congruencia con esta hipótesis, la actividad  $\beta$  sincronizada entre diferentes áreas cerebrales en sujetos sanos se ha asociado a la ejecución de conductas generadas de manera endógena (Engel y Fries, 2010; Leventhal et al., 2012). Un estudio reciente de MEG, que requería la temporalización interna de un metrónomo auditivo, mostró incrementos transitorios de actividad  $\beta$  a lo largo de los sistemas auditivo y motor, la magnitud de estos incrementos dependía de la duración de los intervalos interestímulos y alcanzaba un pico justo antes de la presentación de cada estímulo (Fujioka et al., 2012). Además, incrementos transitorios en el poder de oscilaciones  $\beta$  también se han observado en tareas de percepción del ritmo (Iversen et al., 2009). Estas observaciones sugieren que la actividad  $\beta$  se asocia con representaciones internas de estados sensorimotrices o cognoscitivos, incluyendo el procesamiento interno de eventos temporalizados. Nuestros resultados también apoyan esta idea. La mayoría de las ráfagas de actividad  $\beta$  de alta intensidad sintonizadas al orden secuencial tuvieron un elemento secuencial preferente que pertenece a la fase de continuación de la TIM, caracterizada por la producción endógena de movimientos rítmicos. Considerando este hecho, las oscilaciones  $\beta$  podrían reflejar el mantenimiento de un estado motor en el que predomina la reverberación de información en el circuito de los ganglios de la base, lo que resulta a su vez en la estabilización del circuito haciéndolo poco sensible a influencias externas (o a la ausencia de dichas influencias) para producir correctamente la secuencia de movimientos rítmicos de manera interna, es decir, un procesamiento de tipo *top-down* (Figura 6.1).



**Figura 6.1.** Modelo de procesamiento *bottom-up* y *top-down* a través de sincronización neuronal en diferentes frecuencias de oscilación. La actividad  $\gamma$  se asocia a un procesamiento localizado de información, en grupos relativamente pequeños de neuronas sensibles a la entrada de información externa, de modo que sería un mecanismo para la conjunción de información sensorial con información motora. La actividad  $\beta$  se asocia a un procesamiento en grandes redes neuronales que se sincronizan, esto proporcionaría una alta estabilidad al circuito, lo que lo haría capaz de mantener un estado estable, de manera relativamente independiente de influencias sensoriales externas.

Finalmente, las ráfagas de actividad  $\gamma$  se han asociado al procesamiento de señales sensoriales que guían la conducta (procesamiento *bottom-up*) en estructuras corticales y subcorticales (Kopell et al., 2000; Berke, 2009; Fries, 2009). Nosotros encontramos que las modulaciones del poder en la banda  $\gamma$  se sintonizan preferentemente para elementos secuenciales de la fase de sincronización, y esto fue más claro cuando los registros se alinearon a la presentación de los estímulos, en congruencia con la idea de que la actividad  $\gamma$  se asocia al procesamiento sensorial (Fries, 2009) o cuando se esperan cambios en la entrada sensorial (Engel y Fries, 2010). El procesamiento local de los estímulos auditivos o visuales mediante actividad  $\gamma$  podría ser un mecanismo de conjunción entre la entrada sensorial y la ejecución motora dentro del putamen (Fries et al., 2007; Uhlhaas et al., 2009).

#### *6.4. La actividad $\gamma$ precede a la actividad $\beta$*

Observamos en este trabajo, que la mayoría de los sitios de registro presentan actividad oscilatoria exclusivamente en una banda de frecuencias. Sin embargo, unos pocos sitios presentaron actividad en ambas bandas, pero no de manera simultánea, sino que de manera dinámica se presentaban oscilaciones de alta frecuencia ( $\gamma$ ) que eran sustituidas rápidamente por oscilaciones de baja frecuencia ( $\beta$ ).

No se puede descartar que esto se deba a que, en estos casos, el electrodo estuviese colocado en la interface entre dos circuitos con propiedades funcionales distintas que se activaban sucesivamente. Sin embargo, si este fuese el caso, el patrón encontrado de  $\gamma$  precediendo a  $\beta$  probablemente no sería tan constante. Otra posible explicación es que la actividad más lenta se deba al acoplamiento funcional de varios circuitos que originalmente presentaban actividad oscilatoria en frecuencias más bajas. En este sentido, la actividad  $\gamma$  podría ser el reflejo de actividad de circuitos locales independientes que después se acoplan. Entonces las frecuencias de la banda  $\beta$  proporcionarían una ventana de tiempo más amplia para que ocurra la suma de la actividad de más neuronas individuales en comparación con  $\gamma$ . Otra posibilidad es que la actividad de baja frecuencia en  $\beta$  emerge de la concatenación de los periodos de ciclos de

excitación/inhibición de un número de circuitos que cuando estar desacoplados presentan oscilaciones de más alta frecuencia (Roopun et al., 2008).

### *6.5. Sincronía Local vs. Global, conjunción de rasgos y selección de un plan motor*

Se ha propuesto que la actividad neuronal sincronizada de circuitos neuronales separados provee de una base funcional para solucionar el problema de la conjunción de rasgos (Engel et al., 2001). El modelo de la *conjunción por sincronía* propone que los diferentes grupos neuronales que responden a los atributos de un solo objeto sensorial (p.e. color, orientación, luminosidad, velocidad, identidad) presentan actividad sincronizada, a pesar de encontrarse segregados anatómicamente, y esta actividad sincronizada es el mecanismo que permite que el objeto sensorial sea percibido como una unidad. Por extensión, un modelo similar podría aplicarse a un plan motor constituido por una secuencia de movimientos complejos coordinados.

Los resultados expuestos en esta tesis sugieren que, durante la fase de sincronización, el putamen juega un papel en la conjunción de información sensorial y motora. Una predicción es que durante las ráfagas de actividad  $\gamma$  estriatal, la actividad estriatal presentará un alto nivel de sincronía con la actividad de las cortezas sensoriales (V1 o A1). En contraste, durante la fase de continuación, la actividad del putamen se relaciona con la implementación de un plan de acción, que requiere la coordinación de un mayor número de grupos neuronales, y que requiere ser lo suficientemente estable como para mantenerse en ausencia de pistas sensoriales. La actividad  $\beta$  exacerbada en la Enfermedad de Parkinson se ha asociado a la dificultad para cambiar de un estado motor a otro (Hammond et al., 2007). Probablemente el mayor tamaño del circuito involucrado en la generación de la actividad rítmica resulta en una actividad más estable, en este sentido, el hecho de que los circuitos que oscilan en  $\gamma$  sean más pequeños podría darles una mayor flexibilidad ante la llegada de información de aferencias externas.

## 6.6. Conclusiones generales

Los resultados presentados sugieren que el procesamiento de información temporal en el neocórtex de los primates ocurre de manera conjunta con el procesamiento de aspectos secuenciales, como se ha observado previamente en la corteza premotora medial, de este modo que esta codificación simultánea podría ser un mecanismo general en los circuitos corteza-ganglios basales-tálamo para el procesamiento de información.

Los resultados apoyan la idea de que existe un mecanismo central de procesamiento de información temporal que interactúa con otros sistemas en función de los requerimientos de la tarea. En el circuito corteza-ganglios basales que analizamos en este trabajo se ha encontrado actividad neuronal asociada al tiempo en diferentes modalidades y contextos conductuales, es decir, en un contexto en el que la conducta es guiada por estímulos externos y otro en el que la conducta es generada de manera interna. Esto es congruente con la noción de que circuitos corteza-ganglios basales-tálamo constituyen un núcleo central en el que se procesa la información temporal.

Se propone un modelo de procesamiento de información, en el que la actividad sincronizada en frecuencias de la banda  $\gamma$  se asocia a procesamiento sensorimotor (*bottom-up*), que requiere la interacción entre el núcleo central y estructuras sensoriales accesorias. Por otra parte, la actividad sincronizada en frecuencias de la banda  $\beta$  se asocia a la generación interna y mantenimiento de un plan motor (*top-down*), en el que las estructuras que constituyen el núcleo central interactúan entre ellas de manera muy estable al reclutar un gran número de neuronas. Este modelo es susceptible de ser probado, lo que requiere de nuevos experimentos que permitan estudiar estas asociaciones de una manera más explícita.

# Literatura citada

---

- Alexander GE, Crutcher MD (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 13:266–271.
- Baker SN, Olivier E, Lemon RN (1997) Coherent oscillations in monkey motor cortex and hand muscle EMG show task-dependent modulation. *J Neurosci* 17:225–241.
- Bartolo R, Merchant H (2009) Learning and generalization of time production in humans: rules of transfer across modalities and interval durations. *Exp Brain Res* 197:91–100.
- Bartolo R, Prado L, Merchant H (2014) Information Processing in the Primate Basal Ganglia during Sensory-Guided and Internally Driven Rhythmic Tapping. *J Neurosci* 34:3910–3923.
- Berke JD (2009) Fast oscillations in cortical-striatal networks switch frequency following rewarding events and stimulant drugs. *Eur J Neurosci* 30:848–859.
- Brown P, Oliviero A, Mazzone P, Insola A, Tonali P, Lazzaro V Di (2001) Dopamine Dependency of Oscillations between Subthalamic Nucleus and Pallidum in Parkinson's Disease. *J Neurosci* 21:1033–1038.
- Brown P, Williams D (2005) Basal ganglia local field potential activity: character and functional significance in the human. *Clin Neurophysiol* 116:2510–2519.
- Buhusi C V, Meck WH (2005) What makes us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing. *Nat Rev Neurosci* 6:755–765.
- Buhusi C V., Meck WH (2002) Differential effects of methamphetamine and haloperidol on the control of an internal clock. *Behav Neurosci* 116:291–297.
- Buzsáki G (2006) *Rhythms of the Brain*. New York: Oxford University Press.
- Buzsáki G, Anastassiou CA., Koch C (2012) The origin of extracellular fields and currents-EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nat Rev Neurosci* 13:407–420.
- Collyer CE, Broadbent HA, Church RM (1994) Preferred rates of repetitive tapping and categorical time production. *Percept Psychophys* 55:443–453.
- Coull JT, Vidal F, Nazarian B, Macar F (2004) Functional anatomy of the attentional modulation of time estimation. *Science* (80-) 303:1506–1508.
- deCharms RC, Zador A (2000) Neural representation and the cortical code. *Annu Rev Neurosci* 23:613–647.
- Donnet S, Bartolo R, Fernandes JM, Cunha JP, Prado L, Merchant H (2014) Monkeys temporalize their movement-pauses and not their movement-kinematics during a synchronization-continuation rhythmic task. *J Neurophysiol* In press.
- Donoghue JP, Sanes JN, Hatsopoulos NG, Gaál G (1998) Neural Discharge and Local Field Potential Oscillations in Primate Motor Cortex During Voluntary Movements. :159–173.
- Draper NR, Smith H (1981) *Applied Regression Analysis*. New York: Wiley.

- Engel AK, Fries P (2010) Beta-band oscillations--signalling the status quo? *Curr Opin Neurobiol* 20:156–165.
- Engel AK, Fries P, Singer W (2001) Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing. *Nat Rev Neurosci* 2:704–716.
- Fanjul-Moles ML, Prieto-Sagredo J, López DS, Bartolo-Orozco R, Cruz-Rosas H (2009) Crayfish *Procambarus clarkii* retina and nervous system exhibit antioxidant circadian rhythms coupled with metabolic and luminous daily cycles. *Photochem Photobiol* 85:78–87.
- Fant G, Kruckenberg A (1996) On the quantal nature of speech timing. In: *Proceedings of the ICSLP*, pp 2044–2047.
- Ferraro FR, Balota DA, Connor LT (1993) Implicit Memory and the Formation of New Associations in Nondemented Parkinson's Disease Individuals and Individuals with Senile Dementia of the Alzheimer Type: A Serial Reaction Time (SRT) Investigation. *Brain Cogn* 21:163–180.
- Flores-Hernández J, Galarraga E, Vargas J (1997) Dopamine Selects Glutamatergic Inputs to Neostriatal Neurons. *Synapse* 25:185–195.
- Fries P (2009) Neuronal gamma-band synchronization as a fundamental process in cortical computation. *Annu Rev Neurosci* 32:209–224.
- Fries P, Nikolić D, Singer W (2007) The gamma cycle. *Trends Neurosci* 30:309–316.
- Fujioka T, Trainor LJ, Large EW, Ross B (2012) Internalized timing of isochronous sounds is represented in neuromagnetic beta oscillations. *J Neurosci* 32:1791–1802.
- Fuster JM, Jervey JP (1982) Neuronal firing in the inferotemporal cortex of the monkey in a visual memory task. *J Neurosci* 2:361–375.
- Georgopoulos AP, Kalaska J, Caminiti R, Massey JT (1982) On the relations between the direction of two-dimensional arm movements and cell discharge in primate motor cortex. *J Neurosci* 2:1527–1537.
- Gescheider GA (1997) *Psychophysics: The Fundamentals*, 3rd Editio. Mahwah, New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates, Inc.
- Gibbon J, Malapani C, Dale CL, Gallistel CR (1997) Toward a neurobiology of temporal cognition: advances and challenges. *Curr Opin Neurobiol* 7:170–184.
- Grondin S (2012) Violation of the scalar property for time perception between 1 and 2 seconds: evidence from interval discrimination, reproduction, and categorization. *J Exp Psychol Hum Percept Perform* 38:880–890.
- Haber SN (2003) The primate basal ganglia: parallel and integrative networks. *J Chem Neuroanat* 26:317–330.
- Hammond C, Bergman H, Brown P (2007) Pathological synchronization in Parkinson's disease: networks, models and treatments. *Trends Neurosci* 30:357–364.
- Harmony T, Alba A, Marroquín JL, González-Frankenberger B (2009) Time-frequency-topographic analysis of induced power and synchrony of EEG signals during a Go/No-Go task. *Int J Psychophysiol* 71:9–16.
- Harrington DL, Boyd L a, Mayer AR, Sheltraw DM, Lee RR, Huang M, Rao SM (2004) Neural representation of interval encoding and decision making. *Brain Res Cogn Brain Res* 21:193–205.



- Harrington DL, Haaland KY, Hermanowicz N (1998) Temporal processing in the basal ganglia. *Neuropsychology* 12:3–12.
- Hattori Y, Tomonaga M, Matsuzawa T (2013) Spontaneous synchronized tapping to an auditory rhythm in a chimpanzee. *Sci Rep* 3:1566.
- Helmuth LL, Mayr U, Daum I (2000) Sequence learning in Parkinson's disease: a comparison of spatial- attention and number-response sequences. *Neuropsychologia* 38:1443–1451.
- Howe MW, Atallah HE, McCool A, Gibson DJ, Graybiel AM (2011) Habit learning is associated with major shifts in frequencies of oscillatory activity and synchronized spike firing in striatum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:16801–16806.
- Iversen JR, Repp BH, Patel AD (2009) Top-down control of rhythm perception modulates early auditory responses. *Ann N Y Acad Sci* 1169:58–73.
- Ivry RB (1996) The representation of temporal information in perception and motor control. *Curr Opin Neurobiol* 6:851–857.
- Ivry RB, Hazeltine RE (1995) Perception and production of temporal intervals across a range of durations: evidence for a common timing mechanism. *J Exp Psychol Hum Percept Perform* 21:3–18.
- Jin DZ, Fujii N, Graybiel AM (2009) Neural representation of time in cortico-basal ganglia circuits. *Proc Natl Acad Sci* 106:19156–19161.
- Johnson RA, Wichern DW (1998) *Applied multivariate statistical analysis.*, Fourth. New Jersey: Prentice Hall.
- Kalenscher T, Lansink CS, Lankelma J V, Pennartz CMA (2010) Reward-associated gamma oscillations in ventral striatum are regionally differentiated and modulate local firing activity. *J Neurophysiol* 103:1658–1672.
- Karmarkar UR, Buonomano D V (2007) Timing in the absence of clocks: encoding time in neural network states. *Neuron* 53:427–438.
- Kay LM, Beshel J (2010) A beta oscillation network in the rat olfactory system during a 2-alternative choice odor discrimination task. *J Neurophysiol* 104:829–839.
- Keele SW, Pokorny RA, Corcos DM, Ivry R (1985) Do perception and motor production share common timing mechanisms: A correlational analysis. *Acta Psychol (Amst)* 60:173–191.
- Kermadi I, Joseph JP (1995) Activity in the caudate nucleus of monkey during spatial sequencing. *J Neurophysiol* 74:911–933.
- Kopell N, Ermentrout GB, Whittington M a, Traub RD (2000) Gamma rhythms and beta rhythms have different synchronization properties. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:1867–1872.
- Kristofferson AB (1980) A quantal step function in duration discrimination. *Percept Psychophys* 27:300–306.
- Kühn AA, Kempf F, Brücke C, Gaynor Doyle L, Martinez-Torres I, Pogosyan A, Trottenberg T, Kupsch A, Schneider G-H, Hariz MI, Vandenberghe W, Nuttin B, Brown P (2008) High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus suppresses oscillatory beta activity in patients with Parkinson's disease in parallel with improvement in motor performance. *J Neurosci* 28:6165–6173.

- Kuri-Morales A (2004) Automatic clustering with self-organizing maps and genetic algorithms II: an improved approach. *WSEAS Trans Syst* 2:551–556.
- Lashgari R, Li X, Chen Y, Kremkow J, Bereshpolova Y, Swadlow HA, Alonso JM (2012) Response Properties of Local Field Potentials and Neighboring Single Neurons in Awake Primary Visual Cortex. *J Neurosci* 32:11396–11413.
- Lehéricy S, Ducros M, Van de Moortele P-F, Francois C, Thivard L, Poupon C, Swindale N, Ugurbil K, Kim D-S (2004) Diffusion tensor fiber tracking shows distinct corticostriatal circuits in humans. *Ann Neurol* 55:522–529.
- Leventhal DK, Gage GJ, Schmidt R, Pettibone JR, Case AC, Berke JD (2012) Basal ganglia beta oscillations accompany cue utilization. *Neuron* 73:523–536.
- Levy R, Ashby P, Hutchison WD, Lang AE, Lozano AM, Dostrovsky JO (2002) Dependence of subthalamic nucleus oscillations on movement and dopamine in Parkinson's disease. *Brain* 125:1196–1209.
- Lewis P., Miall R. (2003) Brain activation patterns during measurement of sub- and supra-second intervals. *Neuropsychologia* 41:1583–1592.
- Lima B, Singer W, Chen N-H, Neuenschwander S (2010) Synchronization dynamics in response to plaid stimuli in monkey V1. *Cereb Cortex* 20:1556–1573.
- Liu J, Newsome WT (2006) Local field potential in cortical area MT: stimulus tuning and behavioral correlations. *J Neurosci* 26:7779–7790.
- Macar F, Lejeune H, Bonnet M, Ferrara A, Pouthas V, Vidal F, Maquet P (2002) Activation of the supplementary motor area and of attentional networks during temporal processing. *Exp brain Res* 142:475–485.
- Matell MS, Meck WH (2004) Cortico-striatal circuits and interval timing: coincidence detection of oscillatory processes. *Cogn Brain Res* 21:139–170.
- Matell MS, Meck WH, Nicolelis MAL (2003) Interval timing and the encoding of signal duration by ensembles of cortical and striatal neurons. *Behav Neurosci* 117:760–773.
- Mauk MD, Buonomano D V (2004) The neural basis of temporal processing. *Annu Rev Neurosci* 27:307–340.
- Meck WH (1996) Neuropharmacology of timing and time perception. *Cogn brain Res* 3:227–242.
- Meck WH (2006) Neuroanatomical localization of an internal clock: a functional link between mesolimbic, nigrostriatal, and mesocortical dopaminergic systems. *Brain Res* 1109:93–107.
- Meck WH, Penney TB, Pouthas V (2008) Cortico-striatal representation of time in animals and humans. *Curr Opin Neurobiol* 18:145–152.
- Meegan D V, Aslin RN, Jacobs R a (2000) Motor timing learned without motor training. *Nat Neurosci* 3:860–862.
- Mehring C, Rickert J, Vaadia E, Cardosa de Oliveira S, Aertsen A, Rotter S (2003) Inference of hand movements from local field potentials in monkey motor cortex. *Nat Neurosci* 6:1253–1254.
- Merchant H, Battaglia-Mayer a, Georgopoulos a P (2001) Effects of optic flow in motor cortex and area 7a. *J Neurophysiol* 86:1937–1954.

- Merchant H, Harrington DL, Meck WH (2013a) Neural Basis of the Perception and Estimation of Time. *Annu Rev Neurosci*:313–336.
- Merchant H, Luciana M, Hooper C, Majestic S, Tuite P (2008a) Interval timing and Parkinson's disease: heterogeneity in temporal performance. *Exp Brain Res* 184:233–248.
- Merchant H, Perez O, Zarco W, Gamez J (2013b) Interval Tuning in the Primate Medial Premotor Cortex as a General Timing Mechanism. *J Neurosci* 33:9082–9096.
- Merchant H, Zarco W, Bartolo R, Prado L (2008b) The context of temporal processing is represented in the multidimensional relationships between timing tasks. *PLoS One* 3:e3169.
- Merchant H, Zarco W, Pérez O, Prado L, Bartolo R (2011) Measuring time with different neural chronometers during a synchronization-continuation task. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:19784–19789.
- Merchant H, Zarco W, Prado L (2008c) Do we have a common mechanism for measuring time in the hundreds of millisecond range? Evidence from multiple-interval timing tasks. *J Neurophysiol* 99:939–949.
- Middleton FA, Strick PL (2000a) Basal ganglia and cerebellar loops: motor and cognitive circuits. *Brain Res Rev* 31:236–250.
- Middleton FA, Strick PL (2000b) Basal ganglia output and cognition: evidence from anatomical, behavioral, and clinical studies. *Brain Cogn* 42:183–200.
- Mita A, Mushiaki H, Shima K, Matsuzaka Y, Tanji J (2009) Interval time coding by neurons in the presupplementary and supplementary motor areas. *Nat Neurosci* 12:502–507.
- Mitra PP, Bokil H (2008) *Observed Brain Dynamics*. New York: Oxford University Press.
- Miyachi S, Hikosaka O, Miyashita K, Kárádi Z, Rand MK (1997) Differential roles of monkey striatum in learning of sequential hand movement. *Exp Brain Res* 115:1–5.
- Moore-Ede MC, Sulzman FM, Fuller CA (1982) *The clocks that time us: physiology of the circadian timing system*. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.
- Murthy VN, Fetz EE (1996) Synchronization of neurons during local field potential oscillations in sensorimotor cortex of awake monkeys Synchronization of Neurons During Local Field Potential Oscillations in Sensorimotor Cortex of Awake Monkeys. 76:3968–3982.
- Mushiaki H, Strick PL (1995) Pallidal neuron activity during sequential arm movements Pallidal Neuron Activity During Sequential Arm Movements. *J Neurophysiol* 74:2754–2758.
- Nagarajan SS, Blake DT, Wright BA, Byl N, Merzenich MM (1998) Practice-related improvements in somatosensory interval discrimination are temporally specific but generalize across skin location, hemisphere, and modality. *J Neurosci* 18:1559–1570.
- Nenadic I, Gaser C, Volz H-P, Rammsayer T, Häger F, Sauer H (2003) Processing of temporal information and the basal ganglia: new evidence from fMRI. *Exp Brain Res* 148:238–246.
- Paninski L, Fellows MR, Hatsopoulos NG, Donoghue JP (2004) Spatiotemporal tuning of motor cortical neurons for hand position and velocity. *J Neurophysiol* 91:515–532.

- Parent A, Hazrati L-N (1995) Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Rev* 20:91–127.
- Paulsen JS, Zimbelman JL, Hinton SC, Langbehn DR, Leveroni CL, Benjamin ML, Reynolds NC, Rao SM (2004) fMRI biomarker of early neuronal dysfunction in presymptomatic Huntington's Disease. *Ajnr Am J Neuroradiol* 25:1715–1721.
- Planetta PJ, Servos P (2008) Somatosensory temporal discrimination learning generalizes to motor interval production. *Brain Res* 1233:51–57.
- Postle BR, D'Esposito M (1999) Dissociation of human caudate nucleus activity in spatial and nonspatial working memory: an event-related fMRI study. *Cogn Brain Res* 8:107–115.
- Rammsayer TH (1999) Neuropharmacological evidence for different timing mechanisms in humans. *Q J Exp Psychol B* 52:273–286.
- Rao SM, Harrington DL, Haaland KY, Bobholz JA, Cox RW, Binder JR (1997) Distributed Neural Systems Underlying the Timing of Movements. *J Neurosci* 17:5528–5535.
- Rao SM, Mayer AR, Harrington DL (2001) The evolution of brain activation during temporal processing. *Nat Neurosci* 4:317–323.
- Romo R, Brody CD, Hernández a, Lemus L (1999) Neuronal correlates of parametric working memory in the prefrontal cortex. *Nature* 399:470–473.
- Roopun AK, Kramer M a, Carracedo LM, Kaiser M, Davies CH, Traub RD, Kopell NJ, Whittington MA (2008) Period concatenation underlies interactions between gamma and beta rhythms in neocortex. *Front Cell Neurosci* 2:1–8.
- Sanes JN, Donoghue JP (1993) Oscillations in local field potentials of the primate motor cortex during voluntary movement. *Proc Natl Acad Sci* 90:4470–4474.
- Schalk G, Kubánek J, Miller KJ, Anderson NR, Leuthardt EC, Ojemann JG, Limbrick D, Moran D, Gerhardt L a, Wolpaw JR (2007) Decoding two-dimensional movement trajectories using electrocorticographic signals in humans. *J Neural Eng* 4:264–275.
- Schoffelen J-M, Oostenveld R, Fries P (2005) Neuronal coherence as a mechanism of effective corticospinal interaction. *Science* 308:111–113.
- Singer W, Gray CM (1995) Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 18:555–586.
- Surmeier DJ, Carrillo-Reid L, Vargas J (2011) Dopaminergic modulation of striatal neurons, circuits, and assemblies. *Neuroscience* 198:3–18.
- Tanji J, Shima K (1994) Role for supplementary motor area cells in planning several movements ahead. *Nature* 371:413–416.
- Tecuapetla F, Carrillo-Reid L, Vargas J, Galarraga E (2007) Dopaminergic modulation of short-term synaptic plasticity at striatal inhibitory synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:10258–10263.
- Thomson DJ (1982) Spectrum estimation and harmonic analysis. *Proc IEEE* 70:1055–1096.

- Uhlhaas PJ, Pipa G, Lima B, Melloni L, Neuenschwander S, Nikolić D, Singer W, Nikolic D, Lin S (2009) Neural synchrony in cortical networks: history, concept and current status. *Front Integr Neurosci* 3:1–19.
- Varela F, Lachaux J, Rodriguez E, Martinerie J (2001) The brainweb: Phase synchronization and large-scale integration. *Nat Rev Neurosci* 2.
- Waldert S, Preissl H, Demandt E, Braun C, Birbaumer N, Aertsen A, Mehring C (2008) Hand movement direction decoded from MEG and EEG. *J Neurosci* 28:1000–1008.
- Weinberger M, Hutchison WD, Dostrovsky JO (2009) Pathological subthalamic nucleus oscillations in PD: can they be the cause of bradykinesia and akinesia? *Exp Neurol* 219:58–61.
- Wiener M, Turkeltaub P, Coslett HB (2010) The image of time: a voxel-wise meta-analysis. *Neuroimage* 49:1728–1740.
- Wing AM, Kristofferson AB (1973) Response delays and the timing of discrete motor responses. *Percept Psychophys* 14:5–12.
- Witham CL, Baker SN (2012) Coding of digit displacement by cell spiking and network oscillations in the monkey sensorimotor cortex. *J Neurophysiol* 108:3342–3352.
- Wright BA, Buonomano D V, Mahncke HW, Merzenich MM (1997) Learning and generalization of auditory temporal-interval discrimination in humans. *J Neurosci* 17:3956–3963.
- Young MW (2000) Life 's 24-hour clock : molecular control of circadian rhythms in animal cells. *Trends Biochem Sci* 25:601–606.
- Zarco Castro W (2011) Actividad neuronal de dos áreas de la corteza premotora medial del primate durante la producción de intervalos de tiempo.
- Zarco W, Merchant H, Prado L, Mendez JC (2009) Subsecond timing in primates: comparison of interval production between human subjects and rhesus monkeys. *J Neurophysiol* 102:3191–3202.
- Zelaznik HN, Spencer RM, Ivry RB (2002) Dissociation of explicit and implicit timing in repetitive tapping and drawing movements. *J Exp Psychol Hum Percept Perform* 28:575–588.
- Zhuang J, Truccolo W, Vargas-Irwin C, Donoghue JP (2010) Decoding 3-D reach and grasp kinematics from high-frequency local field potentials in primate primary motor cortex. *IEEE Trans Biomed Eng* 57:1774–1784.

# Apéndice A. Listado de funciones y rutinas de MATLAB utilizadas en el análisis de datos.

---

Las funciones enlistadas en este apéndice son las funciones principales. Estas funciones llaman a funciones auxiliares que no se enlistan aquí. No obstante, la totalidad de las funciones están disponibles en el CD que acompaña esta tesis o en el *website* del LABORATORIO DE NEUROFISIOLOGÍA DE SISTEMAS EN PRIMATES del INB-UNAM (<http://132.248.142.13/personal/merchant/>). Cada función está debidamente documentada. El orden en que las funciones son enlistadas refleja el orden en el que fueron utilizadas para el análisis de los datos y la obtención de los resultados presentados en esta tesis.

## *A1. Análisis espectral*

Para el análisis espectral se usó el paquete de funciones CHRONUX 2.0 para MATLAB. Este paquete está disponible online ([www.chronux.org](http://www.chronux.org)) por lo no será incluido en este listado.

### *A1.1. Espectrogramas*

1. LFP\_SpectralAnalysis\_Loop.m – Carga la base de datos y llama a las funciones de análisis.
2. ExtractLFP\_RB.m – Extrae la información sobre el LFP de la base de datos.
3. GetMeanSpectrum3.m – Obtiene la media y desviación estándar del espectro para todo el registro.
4. MakeSpectrogram3.m – Construye los espectrogramas crudos para todo el registro. En los espectrogramas se sobrepone la conducta, marcando los momentos en los que el animal presiona el botón.
5. MakeNormalizedSpectrogram3.m – Construye los espectrogramas normalizados utilizando la media y desviación estándar del espectro.

### *A1.2. Modulaciones del poder integrado*

1. LFP\_get\_data\_ANOVA.m – Carga la base de datos y llama a las funciones de análisis.
2. ExtractLFP\_RB.m - Extrae la información sobre el LFP de la base de datos.
3. GetMeanSpectrum4.m - Obtiene la media y desviación estándar del espectro para todo el registro.
4. SpectralTuning4.m – Construye los espectrogramas normalizados, integra el poder espectral en la banda especificada y obtiene las series de tiempo del poder integrado. Después busca modulaciones que cumplan los criterios descritos en la sección de métodos y las cuantifica. Los datos de las modulaciones válidas se guardan en una matriz.

## *A3. Estadísticas de las modulaciones del poder espectral.*

1. LFP\_ANOVA.m – Carga los datos de las modulaciones del poder integrado y construye las Tablas de Modulaciones, para las modalidades auditiva y visual por separado, ordenando las magnitudes de las modulaciones en cada intervalo de la secuencia S1-C3. Además realiza un análisis de la varianza de los rangos (Prueba de Friedman) para identificar los registros con un efecto significativo de la duración del intervalo y/o del orden secuencial de la tarea sobre la magnitud de las modulaciones.

2. CatModulationPattern.m – Carga las tablas de modulaciones y las somete a una prueba de Chi-cuadrada para determinar si se ajustan a una distribución homogénea, consistente con respuestas sensorimotoras.

### A1.3. Análisis de coherencia entre LFP's.

1. LFP\_coherenceanalysis\_loop\_RB2013.m – Carga las bases de datos y determina los canales de LFP a analizar. Llama a las funciones de los incisos 2 y 3.
2. ExtractLFPcoh\_RB.m – Extrae la información de los LFP's de la base de datos para el canal especificado.
3. MakeCoherogramSegment – Corta segmentos de los LFP's registrados simultáneamente con base en la banda de frecuencias a analizar. Determina la coherencia entre el par de señales.
4. AnalyzeTunedRunsCoherence.m – Determina las distancias entre electrodos con base en una tabla de las profundidades a las que se colocó cada electrodo durante el registro. Determina la magnitud y la fase de la coherencia con base en los resultados de los scripts de los incisos 1-3 eliminando los sitios de registro que no mostraron sintonización a la estructura secuencial. Construye gráficas de la magnitud o fase de la coherencia en función de la distancia entre electrodos. Realiza un ANOVA sobre magnitud y fase con la distancia entre electrodos y la banda de frecuencias como factores.

### A2. Sintonización a la duración y orden secuencial de los intervalos

1. EncodeInterval.m – Carga las Tablas de Modulaciones y realiza el ajuste de funciones Gaussianas mediante un algoritmo genético en el dominio de la duración de los intervalos para cada elemento de la secuencia. Devuelve los parámetros del ajuste.
2. Get\_Sig\_TuningData\_Interval2ndGeneticMethod.m – Carga los parámetros del ajuste en el dominio de la duración y determina cuáles registros estuvieron sintonizados a la duración, con base en criterios estadísticos de bondad de ajuste.
3. EncodeSequence.m – Carga las Tablas de Modulaciones y realiza el ajuste de funciones Gaussianas mediante un algoritmo genético en el dominio del orden secuencial para cada duración.
4. Get\_Sig\_TuningData\_Sequence2ndGeneticMethod.m – Carga los parámetros del ajuste en el dominio de la secuencia y determina cuáles registros estuvieron sintonizados a la estructura secuencial, con base en criterios estadísticos de bondad de ajuste.
5. BuildMAT4classify\_RB.m – Reordena las Tablas de Modulaciones de aquellos registros sintonizados a la estructura secuencial según los resultados arrojados por el script del inciso 4.
6. DiscriminatorMethod\_forLFP\_Loop\_RB.m – Carga los datos ordenados en el inciso 5 y clasifica los registros con base en su patrón de respuesta utilizando un algoritmo de *K-means*.
7. Get\_Sig\_TuningData\_SequenceFromClassifier.m - Carga los parámetros del ajuste en el dominio de la secuencia y separa los registros sintonizados con base en la clasificación por *K-means* realizada en el inciso 6. Construye histogramas de orden preferido.

### A4. Análisis de fase

Para la estadística circular se utilizó el paquete de funciones para MATLAB CircStat. Dado que este paquete está disponible en la red (<http://www.jstatsoft.org/v31/i10>) no se incluyen descripciones de sus funciones en esta lista.

1. LFP\_SPK\_phaselocalanalysis\_loop\_RB2013.m – Carga la base de datos y llama a otras funciones de análisis.
2. ExtractLFPpl\_RB.m – Extrae la información del LFP y llama a la función del inciso 3.
3. getInstantPhase.m – Somete la señal a un filtrado pasa-bandas para las frecuencias especificadas. Además, aplica la transformada de Hilbert para obtener la señal analítica. Determina la fase instantánea de cada punto de la señal y la envoltura de la señal.
4. ExtractSUApL\_RB.m – Extrae los tiempos en los que ocurrieron potenciales de acción.

5. `MakePhaseAnalysis.m` – Se encarga de determinar la fase en la que se encontraba la actividad oscilatoria cada vez que ocurrió un potencial de acción. Además, construye gráficos ráster que muestran los LFP para cada ensayo con los potenciales de acción y se superpone la conducta, marcando los momentos en los que el animal presiona el botón.
6. `Loop_AnalyzeBurstSpikes.m` – Lee los datos de fase y los pasa a la función del inciso 7.
7. `getBurstSpikes.m` - Extrae la fase de las espigas que ocurrieron durante ráfagas actividad oscilatoria de gran amplitud (determinadas con base en la envoltura de la señal) y fuera de estas ráfagas. Realiza la prueba de Rayleigh para determinar si las fases de las espigas tienen una distribución no homogénea. Cuando la prueba de Rayleigh es positiva obtiene la media circular (fase promedio) y la magnitud del vector resultante. Construye histogramas en roseta que muestran la distribución de fases en que ocurrieron las espigas.
8. `plot_resultantvector_hist.m` – Extrae los datos del vector resultante obtenidos en los incisos 6-7. Obtiene la distribución de fases para todos los registros y construye histogramas en roseta mostrando la distribución poblacional de fases para todas las neuronas.
9. `GetSigTunedResultantVector.m` - Obtiene la distribución de fases para todos los registros y construye histogramas en roseta mostrando la distribución poblacional de fases para todas las neuronas registradas en aquellos sitios con sintonización en el LFP.



# Apéndice B. Currículum Vitae.

---

## DATOS GENERALES

Nombre Completo: Ramón Bartolo Orozco                      Profesión: Biólogo.  
Lugar y fecha de nacimiento: Morelia, Michoacán, México. 18 de julio de 1981  
Sexo: Masculino                      Edad: 33 años.  
Nacionalidad: Mexicano                      CURP: BAOR810718HMNRRM02  
Correo electrónico: [rmn.bartolo@gmail.com](mailto:rmn.bartolo@gmail.com)

## FORMACIÓN ACADÉMICA

### *a) Licenciatura.*

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo - Facultad de Biología. Morelia, Michoacán.  
Carrera: Biólogo.  
Período: 1999-2004.                      Promedio: 9.5

Fecha del examen profesional: 13 de julio de 2005.

Título de la tesis presentada: “Cambios cíclicos en el estado del glutatión en retina y cerebro del acocil *Procambarus clarkii*: efecto de la intensidad luminosa”. Director de Tesis: M. C. Julio Alejandro Prieto Sagredo, Fac. Ciencias – UNAM.

Los resultados del trabajo de tesis de licenciatura forman parte de un artículo publicado en: Photochemistry and Photobiology (ver PUBLICACIONES).

### *b) Maestría.*

Universidad Nacional Autónoma de México – Instituto de Neurobiología.  
Grado: Maestro en Ciencias (Neurobiología)  
Período: 2006-2008                      Promedio parcial: 9.42

Fecha de examen de grado: 22 de agosto de 2008

Título de la tesis: “Generalización de intervalos temporales: psicofísica en sujetos humanos”. Director de tesis: Dr. Hugo Merchant.

El trabajo de tesis de maestría derivó en un artículo publicado en Experimental Brain Research (ver PUBLICACIONES).

### *b) Doctorado.*

Universidad Nacional Autónoma de México – Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas.  
Instituto de Neurobiología  
Grado: Doctor en Ciencias

Título de la tesis: “Bases Neurofisiológicas de la Producción de Intervalos de Tiempo en el Neocórtex del Primate”. Director de tesis: Dr. Hugo Merchant.

## HABILIDADES

Neurociencia conductual, Análisis conductual, Psicofísica, Electrofisiología, Neurofisiología, Aprendizaje motor, Control motor, Lenguajes de programación (Visual Basic, MATLAB), Análisis estadístico y procesamiento de datos, Redacción científica.

## IDIOMAS

Español, Inglés.

## PUBLICACIONES

### A) Artículos científicos.

**Ramón Bartolo**, Luis Prado, Hugo Merchant: *Engagement of putaminal beta oscillations during the initiation of sensory-cued movement sequences and during the execution of internally driven isochronous tapping in the monkey*. **En preparación**.

Hugo Merchant, Oswaldo Pérez, **Ramón Bartolo**, Juan Carlos Méndez, Germán Mendoza, Jorge Gámez, Karyna Yc, Luis Prado: *Sensorimotor neural dynamics during isochronous tapping in the medial premotor cortex of the macaque*. European Journal of Neuroscience. **Enviado**.

David Crowe, Wilbert Zarco, **Ramón Bartolo**, Hugo Merchant: *Dynamic representation of the temporal and sequential structure of rhythmic movements in the primate medial premotor cortex*. Journal of Neuroscience 09/2014; 34(36):11972-83.

**Ramón Bartolo**, Luis Prado, Hugo Merchant: *Information Processing in the Primate Basal Ganglia during Sensory-Guided and Internally Driven Rhythmic Tapping*. Journal of Neuroscience 03/2014; 34(11):3910-23.

Sophie Donnet, **Ramón Bartolo**, Jose Maria Fernandes, João Paulo Silva Cunha, Luis Prado, Hugo Merchant: *Monkeys time their pauses of movement and not their movement-kinematics during a synchronization-continuation rhythmic task*. Journal of Neurophysiology 02/2014;

Henkjan Honing, Hugo Merchant, Gábor P Háden, Luis Prado, **Ramón Bartolo**: *Rhesus Monkeys (Macaca mulatta) Detect Rhythmic Groups in Music, but Not the Beat*. PLoS ONE 01/2012; 7(12):e51369.

Richard P Di Fabio, Hugo Merchant, **Ramón Bartolo**, Paul Tuite: *Temporal discrimination learning for treatment of gait dysfunction in Parkinson's disease: a feasibility study using single subject design*. Journal of Parkinsonism and RLS. 01/2012; 1(1).

Hugo Merchant, Wilbert Zarco, Oswaldo Pérez, Luis Prado, **Ramón Bartolo**: *Measuring time with different neural chronometers during a synchronization-continuation task*. Proceedings of the National Academy of Sciences 11/2011; 108(49):19784-9.

**Ramón Bartolo**, Hugo Merchant: *Learning and generalization of time production in humans: rules of transfer across modalities and interval durations*. Experimental Brain Research 07/2009; 197(1):91-100.

María Luisa Fanjul-Moles, Julio Prieto-Sagredo, Dario Santiago López, **Ramón Bartolo-Orozco**, Hugo Cruz-Rosas: *Crayfish Procambarus clarkii retina and nervous system exhibit antioxidant circadian*

*rhythms coupled with metabolic and luminous daily cycle*. Photochemistry and Photobiology 01/2009; 85(1):78-87.

Hugo Merchant, Wilbert Zarco, **Ramon Bartolo**, Luis Prado: *The context of temporal processing is represented in the multidimensional relationships between timing tasks*. PLoS ONE 02/2008; 3(9):e3169.

Daniel Díaz, **Ramon Bartolo**, Dulce M Delgadillo, F Higueldo, Juan C Gomora: *Contrasting effects of Cd<sup>2+</sup> and Co<sup>2+</sup> on the blocking/unblocking of human Cav3 channels*. Journal of Membrane Biology 10/2005; 207(2):91-105.

### **B) Capítulos en libros.**

Hugo Merchant, Thomas Naselaris, Wilbert Zarco, **Ramón Bartolo**, Luis Prado, Oswaldo Perez, Karyna Yc, Juan Carlos Mendez: *Functional architecture of directional tuning in the primate motor cortex during 3D reaching*. In: *From Development to Degeneration and Regeneration of the Nervous System*. Riback M, Carlos Aramburo de la Hoz, Edward G Jones, Jorge Larriva Sahd, Larry Swanson (Eds). Oxford University Press, London 2008.

Hugo Merchant, **Ramón Bartolo**, Juan Carlos Méndez, Oswaldo Pérez, Wilbert Zarco, Germán Mendoza: *What Can Be Inferred from Multiple-task Psychophysical Studies about the Mechanisms for Temporal Processing?*. Multidisciplinary Aspects of Time and Time Perception - COST TD0904 International Workshop, Athens, Greece, October 7-8, 2010, Revised Selected Papers; 01/2010.

## **PRESENTACIONES EN CONGRESOS**

### **a) Congresos Nacionales**

XLVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. (Aguascalientes, Aguascalientes. 3 al 6 de agosto de 2003). Gómora JC, Bartolo R y Delgadillo DM. *Avances en el conocimiento de las propiedades biofísicas de los canales de calcio Cav3: Bloqueo por cationes divalentes y trivalentes*.

XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. (Guadalajara, Jalisco. 7 de septiembre de 2005). Bartolo Orozco R, Santiago López D, Prieto Sagredo JA y Fanjul Moles ML. *La retina y el ganglio óptico del acocil Procamburus clarkii presentan ritmos antioxidantes*.

XLIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. (Querétaro, Querétaro. 7 de septiembre de 2006). Cruz-Rosas H, Bartolo-Orozco R, Prieto-Sagredo J, Santiago López D, Fanjul-Moles M. *El cerebro y el lóbulo óptico del acocil Procamburus clarkii muestran ritmos circadianos antioxidantes acoplados al metabolismo*.

L Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. (Puebla, Puebla. 9 al 13 de septiembre de 2007). Bartolo-Orozco R, Merchant H. *Generalización de intervalos temporales: Psicofísica en sujetos humanos*.

LI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas (Mérida, Yucatán. 2008). Bartolo R, Zarco W, Prado L, Merchant H. *Propiedades funcionales de la corteza prefrontal durante la producción de intervalos temporales*.

LII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas (Morelia, Michoacán, 2009). Bartolo R, Zarco W, Prado L, Merchant H. *Neuronas de la corteza premotora medial del mono rhesus codifican el tiempo transcurrido o restante durante la producción de intervalos de tiempo.*

LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas (León, Guanajuato, 2011). Bartolo R, Prado L, Merchant H. *Incremento en la actividad gamma de los potenciales locales de campo del putamen durante la producción de movimientos ritmicos generados internamente en el primate.*

### ***b) Congresos Internacionales***

The Cajal Club Annual Meeting. (Querétaro, México, 2007). Bartolo R, Merchant H. *Generalization of time Intervals.*

38th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Washington D.C., USA, 2008). Bartolo R, Merchant H. *Learning and generalization of time production in humans: Rules for transfer across modalities and interval durations.*

40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (San Diego, USA, 2010). Bartolo R, Prado L, Merchant H. *Neurophysiology of temporal processing in the putamen of the Rhesus monkey.*

42nd Annual Meeting of the Society for Neuroscience (New Orleans, USA, 2012). Bartolo R, Prado L, Merchant H. *The oscillatory activity of the primate putamen is associated with the temporal and sequential structure of a synchronization-continuation tapping task.*

## **RECONOCIMIENTOS O DISTINCIONES**

“Premio Padre de la Patria” en el ciclo escolar 2000-2001 en la Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 4 de octubre de 2001.

“Reconocimiento” al 5º mejor promedio de la generación 1999-2004 del 1º al 9º semestres. Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

“Mención Honorífica” en Examen Profesional. Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 13 de julio de 2005.

“Mención Honorífica” en Examen de Grado de Maestría. Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México. 22 de agosto de 2008.

“Primer Lugar” en Exposición de Carteles de las XX Jornadas Académicas del Instituto de Neurobiología. Universidad Nacional Autónoma de México. 27 de septiembre de 2013.

## **BECAS**

Becario CONACYT. Beca nacional para realizar estudios de Maestría. No. de registro CVU: 207902.

Becario CONACYT. Beca nacional para realizar estudios de Doctorado. No. de becario: 202421

**ACTUALIZADO AL:** 24 de Septiembre de 2014.

# Apéndice C. Artículo de investigación publicado en revista internacional indizada.

---

En:

The Journal of Neuroscience, March 12, 2014. Vol. 34, Issue (11), Pags: 3910-3923.

# Information Processing in the Primate Basal Ganglia during Sensory-Guided and Internally Driven Rhythmic Tapping

Ramón Bartolo, Luis Prado, and Hugo Merchant

Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro, 76230, México

Gamma ( $\gamma$ ) and beta ( $\beta$ ) oscillations seem to play complementary functions in the cortico-basal ganglia-thalamo-cortical circuit (CBGT) during motor behavior. We investigated the time-varying changes of the putaminal spiking activity and the spectral power of local field potentials (LFPs) during a task where the rhythmic tapping of monkeys was guided by isochronous stimuli separated by a fixed duration (synchronization phase), followed by a period of internally timed movements (continuation phase). We found that the power of both bands and the discharge rate of cells showed an orderly change in magnitude as a function of the duration and/or the serial order of the intervals executed rhythmically. More LFPs were tuned to duration and/or serial order in the  $\beta$ - than the  $\gamma$ -band, although different values of preferred features were represented by single cells and by both bands. Importantly, in the LFPs tuned to serial order, there was a strong bias toward the continuation phase for the  $\beta$ -band when aligned to movements, and a bias toward the synchronization phase for the  $\gamma$ -band when aligned to the stimuli. Our results suggest that  $\gamma$ -oscillations reflect local computations associated with stimulus processing, whereas  $\beta$ -activity involves the entrainment of large putaminal circuits, probably in conjunction with other elements of CBGT, during internally driven rhythmic tapping.

**Key words:** interval tuning; rhesus monkey; spikes and LFPs; synchronization-continuation task; timing

## Introduction

Rhythmic activity in the brain is thought to reflect coordinated network activity and to influence single-cell responses during sensory, cognitive, and motor behaviors (Buzsáki, 2006). For example, in the motor system, the oscillatory activity in local field potentials (LFPs) in the beta- ( $\beta$ , 13–30 Hz) and gamma-bands ( $\gamma$ , 30–70 Hz) play a complementary role in the sensorimotor computations involved in the control of voluntary movements. Numerous studies have provided evidence that cortical  $\beta$ -band oscillations increase after the presentation of a cue that guides a movement, decrease during movement execution, and increase again during holding periods after the movement (Sanes and Donoghue, 1993; Murthy and Fetz, 1996; Baker et al., 1997). In contrast, during the preparation and execution of movements, the  $\beta$ -band is replaced by  $\gamma$ -band rhythmic activity (Schoffelen et al., 2005). Furthermore,  $\beta$ -oscillations emerge with small time delays between areas of the cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop

(CBGT) and play a distinct role in coordinating sensorimotor information within this circuit (Courtemanche et al., 2003; Howe et al., 2011; Leventhal et al., 2012), whereas  $\gamma$ -activity is inherently local (Kalenscher et al., 2010; Howe et al., 2011). Therefore, a recent hypothesis suggests that endogenously driven top-down processes are associated with large-scale communication in the  $\beta$ -band (Engel and Fries, 2010). On the contrary, spikefield synchrony is primarily local during  $\gamma$ -bursts, and  $\gamma$ -band increments have been associated with sensory cued bottom-up behaviors in cortical and subcortical areas (Kopell et al., 2000; Berke, 2009; Fries, 2009). Nevertheless, more evidence is needed to test these ideas.

A task that has been a pillar in the interval timing literature, called the synchronization and continuation tapping task (SCT), is ideally situated to investigate the association between sensory versus internally driven behaviors and the  $\gamma$ - and  $\beta$ -bands, respectively (Wing and Kristofferson, 1973; Merchant et al., 2008b, 2008c; Zarco et al., 2009; Repp and Su, 2013). This paradigm has an initial period where the rhythmic behavior is synchronized to a metronome of isochronous stimuli in the hundreds of milliseconds range (synchronization phase), followed by a period where subjects internally temporalize their tapping movements (continuation phase). Hence, oscillations in the  $\gamma$ -band (indicative of local processing) would be expected during the synchronization phase, whereas  $\beta$ -band oscillations (global processing) would be expected during the continuation phase of the SCT. Indeed, brain oscillatory activity has been suggested as a major signal to encode the passage of time (Treisman et al., 1994). Recent imaging and neurophysiological studies have implicated the CBGT as a fundamental part of the timing mechanism in time

Received June 22, 2013; revised Feb. 3, 2014; accepted Feb. 9, 2014.

Author contributions: H.M. designed research; R.B., L.P., and H.M. performed research; R.B. and H.M. analyzed data; R.B. and H.M. wrote the paper.

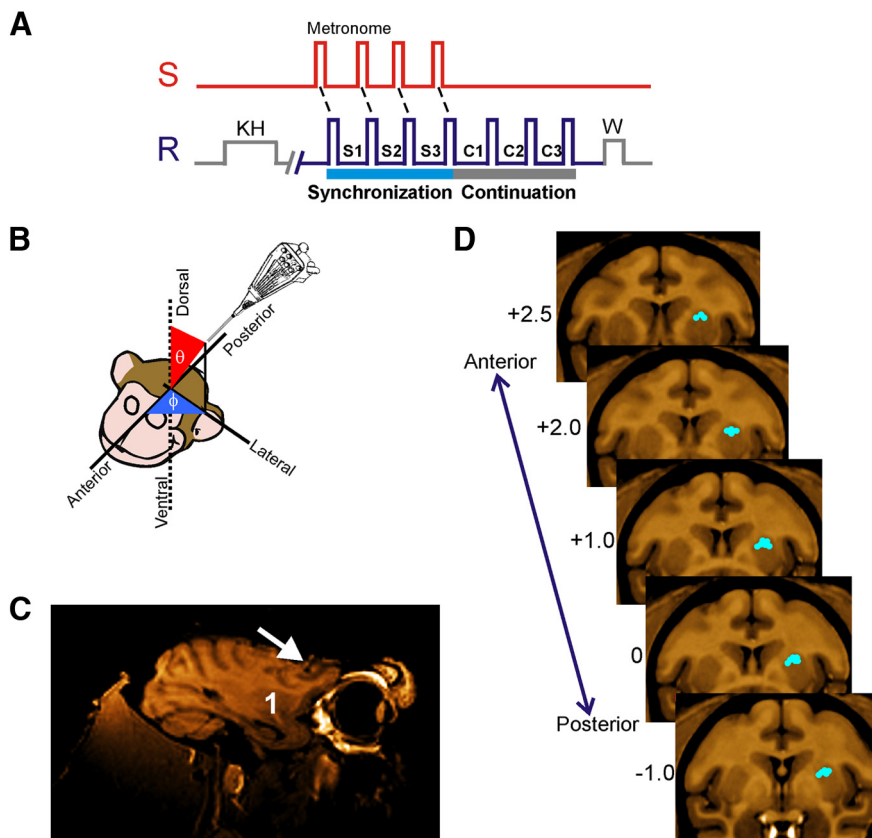
This work was supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología Grants 151223, PAPIIT IN200511 to H.M. and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología scholarship 202421 to R.B. This work is part of the Doctoral Thesis of Ramón Bartolo, Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. We thank Raul Paulin and Juan José Ortiz for technical assistance; and David Crowe, Victor de Lafuente, Saskia Haegens, Juan Carlos Méndez, and Ranulfo Romo for fruitful comments on the manuscript.

The authors declare no competing financial interests.

Correspondence should be addressed to Dr. Hugo Merchant, Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro, 76230, México. E-mail: hugomerchant@unam.mx, merch006@umn.edu.

DOI:10.1523/JNEUROSCI.2679-13.2014

Copyright © 2014 the authors 0270-6474/14/343910-14\$15.00/0



**Figure 1.** SCT and location of recording sites. **A**, Sensory and motor events in the SCT. S, Stimuli with an isochronous interval; R, push-button press; KH, key hold; W, reward; S1–S3, intertap intervals of the synchronization phase; C1–C3, intervals of the continuation phase. **B**, Navigation method to reach the dorsal putamen. Guiding cannulae were oriented in spherical coordinates with respect to the anterior–posterior, medial–lateral, and dorsal–ventral axes of the monkey’s head. MRI was used to calculate the appropriate coordinates and to verify the trajectory. **C**, MRI in the parasagittal plane where the white arrow points to the trajectory of an MRI-compatible cannula and the number 1 is located on the putamen. **D**, Representative standard coronal sections of the macaque brain (Frey et al., 2011) illustrating the area in which LFPs were recorded for one monkey. The numbers to the left are millimeters with respect to the anterior commissure. Blue dots correspond to the recording sites.

perception (Macar et al., 2006; Harrington et al., 2010) and time production tasks in the scale of hundreds of milliseconds (Jin et al., 2009; Wiener et al., 2010), including the SCT (Rao et al., 1997; Merchant et al., 2011, 2013a; Perez et al., 2013). Therefore, in the present study, we investigated the dynamic changes of both the spiking responses and the  $\gamma$ - and  $\beta$ -activity in LFPs of the putamen during a version of SCT with three intervals in the synchronization phase and three intervals in the continuation phase.

## Materials and Methods

### General

Two male monkeys (*Macaca mulatta*, 5–7 kg body weight) were trained to tap on a push button in a SCT (see below). Neurophysiological recordings were performed in the putamen during performance of the task (Merchant et al., 1997). All the animal experimental procedures were approved by the National University of Mexico Institutional Animal Care and Use Committee and conformed to the principles outlined in the Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Institutes of Health, publication number 85-23, revised 1985).

### Task (SCT)

The SCT used in this study has been described previously (Zarco et al., 2009; Merchant et al., 2011). Briefly, the monkeys were required to push a button each time stimuli with a constant interstimulus interval were presented, which resulted in a stimulus–movement cycle (see Fig. 1A). After four consecutive synchronized movements, the stimuli

were eliminated, and the monkeys continued tapping with the same interval for three additional intervals, producing 6 sequential intertap intervals. Liquid reward contingencies changed as a function of the trial duration, as described previously (Zarco et al., 2009). Trials were separated by a variable intertrial interval (2–4 s). Trials with produced intervals <18% of absolute error with respect to the target interval were considered correct. The target intertap intervals, defined by brief auditory (33 ms, 2000 Hz, 65 dB) or visual (32 ms,  $10 \times 10$  cm square) stimuli were 450, 550, 650, 850, and 1000 ms and were presented in random order within a repetition. Five repetitions were collected for each target interval.

### Neural recordings

LFPs and single-cell activity were recorded in the putamen using a system with 7 independently movable microelectrodes (1–3 M $\Omega$ , Thomas Recording) (Merchant et al., 2001). Electrodes were placed using guiding cannulae. Recordings were made in sites where single-unit activity was found, and the recording sites changed from session to session. At each site, raw extracellular electric activity was sampled at 40 kHz. Spikes were manually sorted using the Offline Sorter (Plexon). LFPs were acquired by low-pass filtering the raw signal (Thomas Recording, cutoff 140 Hz) and then down-sampling the filtered signal at 571 Hz. Structural MRI was used to localize the recording sites. Using the voxel size, the 3D Cartesian coordinates ( $x, y, z$ ) of the insertion site (origin), and the target recording site, we computed the following three measures in spherical coordinates (see Fig. 1B):

$$\rho = \sqrt{(x_{\text{target}} - x_{\text{origin}})^2 + (y_{\text{target}} - y_{\text{origin}})^2 + (z_{\text{target}} - z_{\text{origin}})^2}$$

$$\theta = \arctan\left(\frac{y_{\text{target}} - y_{\text{origin}}}{x_{\text{target}} - x_{\text{origin}}}\right) \quad (2)$$

$$\phi = \arccos\left(\frac{z_{\text{target}} - z_{\text{origin}}}{\rho}\right) \quad (3)$$

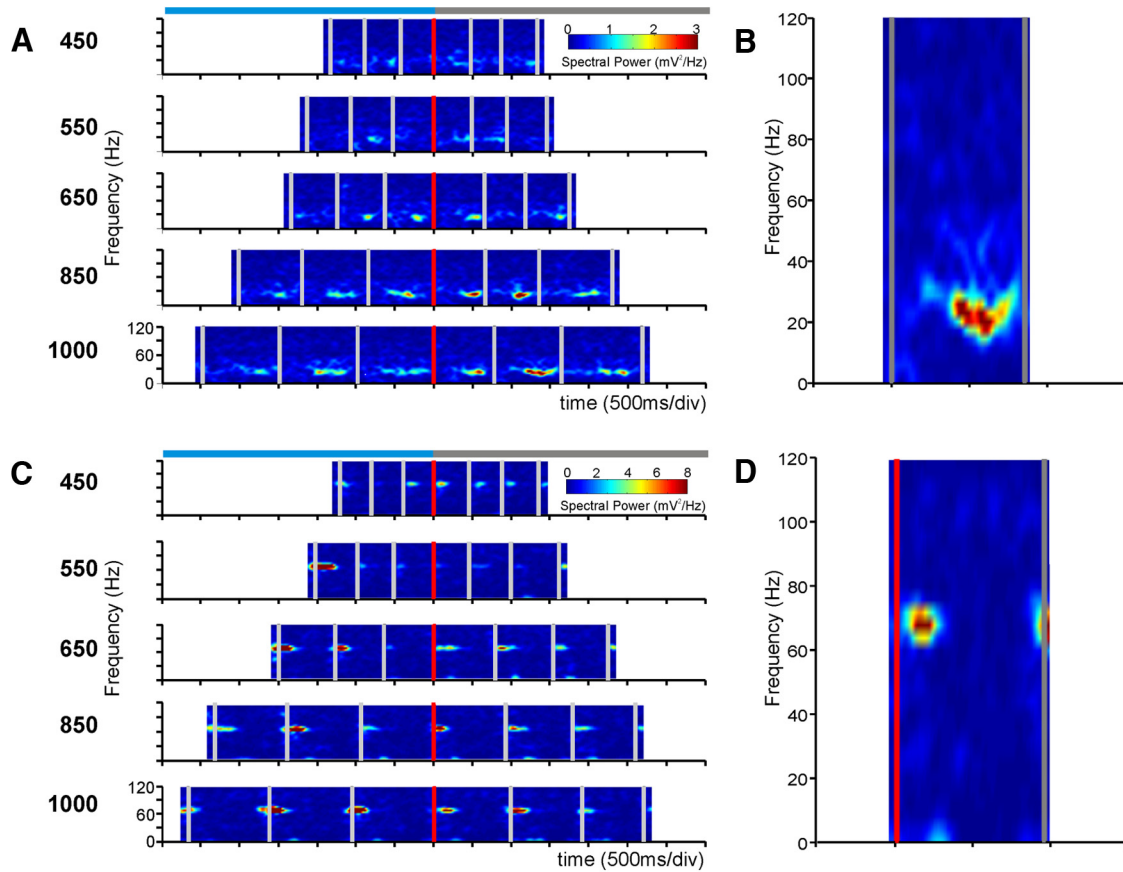
With this information, we determined the appropriate insertion angles  $\phi$  (rotation),  $\theta$  (inclination), and the distance  $\rho$  that the electrodes will move forward from the insertion site to reach the recording target area. The insertion angles were verified using an MRI-compatible cannula at  $\phi$  and  $\theta$  in an additional MR scan (see Fig. 1C). Thus, the electrodes were moved to the dorsal portion of the putamen using these insertion angles. Electrophysiological recordings were performed from the putamen contralateral to the moving hand, at an anteroposterior level within 2.75 mm and  $-1.0$  mm referred to the anterior commissure (see Fig. 1D). Remarkably, during the recording sessions the actual distance at which we found striatal activity was similar to the predicted distance  $\rho$ .

### Data analysis

**General.** Subroutines written in MATLAB (version 7.6.0.324, MathWorks) were used for all the analyses. LFP signals were aligned to each tap or stimulus in the task to look for associated power modulations. Power modulations were quantified and further analyzed.

**Spectral analysis.** Spectral quantities were estimated using the multitaper method (Thomson, 1982) implemented in Chronux 2.00 (Mittra and Bokil, 2008). The bandwidth used for smoothing was always 10 Hz.





**Figure 2.** Transient increases in the spectral power of LFPs. **A**, Raw, unsmoothed spectrograms of a single LFP recording. Each plot corresponds to the target interval indicated on the left. The vertical axis is the frequency of the oscillatory activity, and the horizontal axis is the time during the performance of the task. Gray vertical bars represent the times at which the monkey tapped on the push-button. All the spectrograms are aligned to the last tap of the synchronization phase (red vertical bar). Top, Light-blue and gray horizontal bars represent the synchronization and continuation phases, respectively. Each spectrogram is the average of 5 trials. **B**, Close-up of the C2 intertap interval of the 1000 ms plot in **A**, showing that transient power increases occurred in the  $\beta$ -band. **C**, Spectrograms of a different LFP recording showing transient power increases in a larger frequency than in **A**. **D**, Close-up of the C1 intertap interval of the 1000 ms plot in **C** showing that the transient power increments occurred in the  $\gamma$ -band.

Spectrograms were constructed for each trial using a sliding window, with steps of 10 ms, covering the whole LFP time-series. For frequencies in the  $\beta$ -band (10–30 Hz), the window size was 300 ms and 1 Slepian taper was used. Noteworthy, we also tested Hanning and Hamming tapers for this band, obtaining similar results. For frequencies in the  $\gamma$ -band (30–80 Hz), the window size was 200 ms and 3 Slepian tapers were used. Spectral density estimates were expressed as z-scores with respect to the mean and SD of all the recording session. Behavioral variability produced intertap intervals that varied across trials (e.g., the produced duration of element S2 of a given target can vary across the 5 trials); hence, to obtain trial-averaged spectrograms we aligned signal segments of each intertap interval, giving 5 segments of different lengths. To get equal-length segments, the middle-length segment was used as a reference, and the segments from the remaining 4 trials were trimmed or zero-padded accordingly; averaged spectral estimates were computed from these aligned segments for displaying purposes only.

The time-varying modulation of spectral estimates was assessed on the curves of integrated (trapezoidal) z-score values within the  $\beta$ - or  $\gamma$ -bands. Significant modulations were defined as the changes in integrated spectral density that were above a threshold (session mean + SD) for at least 50 ms in at least 3 trials.

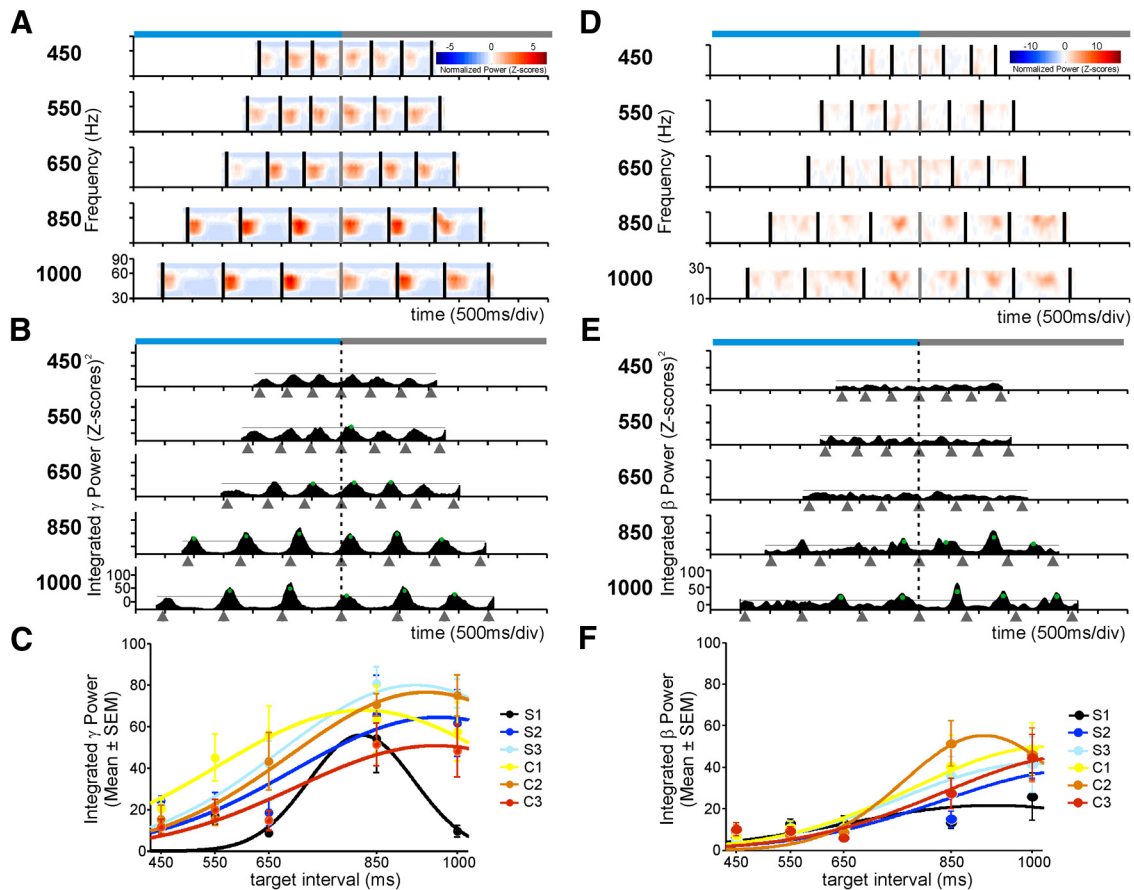
**Classification of spectral modulation patterns.** LFP  $\beta$ - and  $\gamma$ -band power curves with significant Friedman effects on serial order were segregated in two functionally distinct categories, namely, ordinal- or phase-selective curves, using K-means clustering. This procedure partitioned LFPs into 13 clusters, where each curve was associated to the cluster with the nearest mean (Johnson and Wichern, 1998). The initial means of the clusters were as follows:  $\mu_1 = (1,0,0,0,0,0)$ ;  $\mu_2 =$

$(0,1,0,0,0,0)$ ;  $\mu_3 = (0,0,1,0,0,0)$ ;  $\mu_4 = (0,0,0,1,0,0)$ ;  $\mu_5 = (0,0,0,0,1,0)$ ;  $\mu_6 = (0,0,0,0,0,1)$ ;  $\mu_7 = (1,1,0,0,0,0)$ ;  $\mu_8 = (0,1,1,0,0,0)$ ;  $\mu_9 = (0,0,1,1,0,0)$ ;  $\mu_{10} = (0,0,0,1,1,0)$ ;  $\mu_{11} = (0,0,0,0,1,1)$ ;  $\mu_{12} = (1,1,1,0,0,0)$ ; and  $\mu_{13} = (0,0,0,1,1,1)$ .

where  $\mu_1$ – $\mu_6$  correspond to the clusters that responded only to one element of the six interval sequence,  $\mu_7$ – $\mu_{11}$  to the clusters that responded to two consecutive elements of the sequence, and  $\mu_{12}$  and  $\mu_{13}$  to the synchronization and continuation phase, respectively. The normalized integrated power for each ordinal element, across interval durations and trials (a total of 30 trials for each ordinal element) was used as the dependent variable. A one-way multivariate ANOVA was performed using the normalized responses of cells across each ordinal element as dependent variables and the clustering results as factors. The results showed that the 13 clusters were significantly different for each other ( $\beta$ -auditory  $\chi^2_{(84)} = 1.25 \times 10^3$ ;  $\beta$ -visual  $\chi^2_{(84)} = 1.24 \times 10^3$ ;  $\gamma$ -auditory  $\chi^2_{(78)} = 949.59$ ;  $\gamma$ -visual  $\chi^2_{(78)} = 802.71$ ;  $p < 0.00001$  for all conditions).

**Interval and serial-order tuning.** The Friedman test was used to identify recordings with a significant effect of interval duration or serial order on the magnitude of the spectral modulation. A Gaussian function was fitted to the integrated power to determine the tuning to interval duration or serial order only for recordings with a significant effect revealed by the Friedman test. The integrated power for each produced interval during the SCT was treated as the dependent variable in a





**Figure 3.** Time-varying modulations in the  $\gamma$ - and  $\beta$ -power of two different LFP signals that show selectivity to interval duration. **A**, Normalized spectrograms in the  $\gamma$ -band. Each plot corresponds to the target interval indicated on the left. The horizontal axis is the time during the performance of the task. Black vertical bars represent the times at which the monkey tapped on the push-button. All the spectrograms are aligned to the last tap of the synchronization phase (gray vertical bar). Top, Light-blue and gray horizontal bars represent the synchronization and continuation phases, respectively. **B**, Plots of the integrated power time-series for each target duration. Gray triangles below the time axis represent tap times. Green dots correspond to power modulations above the 1 SD threshold (black solid line) for a minimum of 50 ms across trials. The vertical dotted line indicates the last tap of the synchronization phase. **C**, Interval tuning in the integrated  $\gamma$  power. Dots are the mean  $\pm$  SEM, and lines indicate the fitted Gaussian functions. Tuning functions were calculated for each of the six elements of the task sequence (S1–S3 for synchronization and C1–C3 for continuation) and are color-coded (inset). **D–F**, Same as in **A–C** for a different LFP recording that showed  $\beta$ -band power modulations that were selective for interval duration.

nonlinear regression where the interval duration or serial order was used as independent variables in the following equation:

$$f(s) = h e^{-\left(\frac{\|s, s_p\|}{k}\right)^2} \quad (4)$$

where  $f(s)$  corresponds to the integrated power associated to a particular value of the independent variable  $s$ ,  $h$  is the parameter of maximum height, and  $k$  is the parameter of dispersion.  $\|s, s_p\|$  is the Euclidean distance between  $s$  and  $s_p$ , where  $s_p$  corresponds to the preferred interval or preferred serial order. The regression was performed for each produced interval in the SCT sequence for the interval duration fittings, as well as for each duration for the serial order fittings. The function was fitted using the least-squares method following a genetic algorithm (Kuri-Morales, 2004). A detailed analysis of the residuals was performed (Draper and Smith, 1981) and the  $R^2$  calculated. The statistical significance of the fittings was assessed using the corresponding ANOVA for the regression.

**Tuning dispersion measure.** We used the half-width dispersion,  $k_{50}$ , at the midpoint of the tuning magnitude as the consistent measure of tuning dispersion. The corresponding equation was as follows:

$$k_{50} = \sqrt{\ln 2k} \quad (5)$$

**Coherence analysis.** Simultaneously recorded, raw LFP signals from serial order tuned recordings were used for coherence analysis with the purpose of determining the local or global nature of the oscillatory entrain-

ment inside the putamen. We used the segments covering intervals C1–C2 to compute the  $\beta$ -band coherence, and segments S2–C1 for the  $\gamma$ -band coherence, based on the distributions of preferred serial order showed in Figure 9. Two and three Slepian tapers were used to estimate the  $\beta$ - and  $\gamma$ -band spectra, respectively, using the multitaper method implemented in Chronux 2.00 (Mitra and Bokil, 2008). Coherence was calculated according to the relation as follows:

$$C_{i,j} = \frac{S_{i,j}}{\sqrt{S_i S_j}} \quad (6)$$

Where  $C_{i,j}$  is the complex coherence,  $S_i$  and  $S_j$  are the spectra of the LFPs in channels  $i$  and  $j$ , respectively, and  $S_{i,j}$  is the cross-spectrum of the two signals. The complex coherence within the frequency band of interest was averaged across trials and durations. This average was used to calculate magnitude and phase. The coherence magnitude is defined as  $abs(C_{i,j})$ , and the phase-angle was given by the absolute value of  $atan2(imag(C_{i,j}), real(C_{i,j}))$ .

**Spike-field phase locking analysis.** Raw LFP signals were zero-phase bandpass filtered ( $\beta$  or  $\gamma$ ). The filtered signal was then normalized to z-scores with respect to the session mean and SD. Then simultaneously recorded single-unit activity from the same site was aligned to the LFP and behavioral tap times. Units that reached a spike rate  $>5$  Hz were used for phase-locking analysis. We used the Hilbert transform of the normalized LFP to calculate the instantaneous phase and the envelope. Bursts of  $\beta$ - or  $\gamma$ -activity were defined as the periods where the envelope of the

**Table 1.** Number of LFPs with significant effects on Friedman test ( $p < 0.05$ ) for the noted factors, from a total of 285 recording sites<sup>a</sup>

	$\beta$		$\gamma$	
	Auditory	Visual	Auditory	Visual
Duration	56	53	64	74
Serial order	48	51	44	44
Duration and serial order	120	130	106	94
Sensorimotor	8	9	16	16
No effect	53	42	55	57
Total	285	285	285	285

<sup>a</sup>LFPs with sensorimotor responses showed similar power modulations across duration and serial order ( $\chi^2$  test,  $p > 0.05$ ).

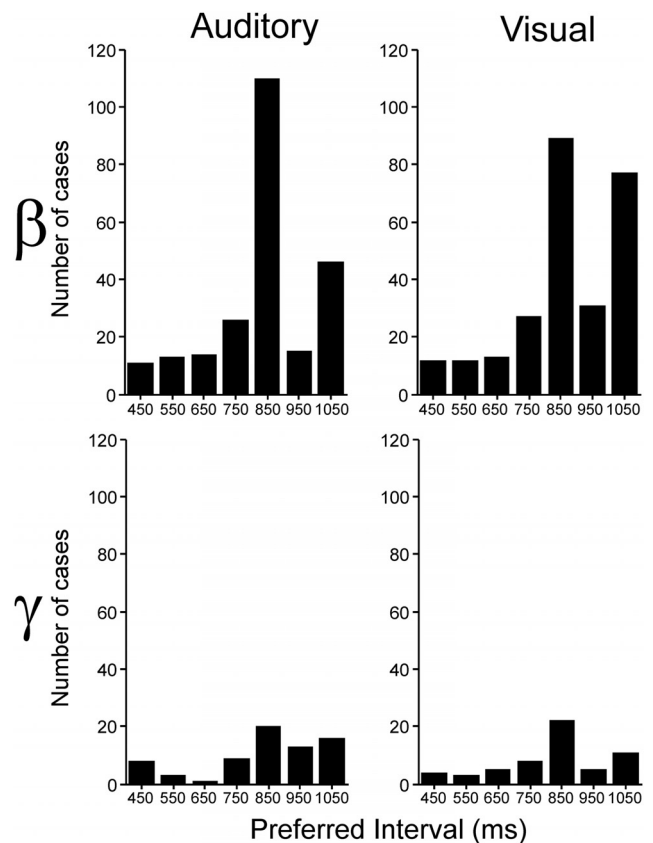
signal was maintained above a z-score threshold of 1.96 for at least 3 oscillation cycles (Howe et al., 2011). The phases of spikes that occurred 100 ms around the peak of the burst were analyzed. By convention, the peak of an oscillation was set to 90° of phase angle. Circular statistics were performed using the CircStat toolbox (Berens, 2009). We determined whether the spikes were significantly phase-locked during bursts using the Rayleigh test (Batschelet, 1981). Population analyses (mean resultant vector length and phase angle) were based on the circular mean of significantly phase-locked individual neurons.

## Results

### Interval tuning in the putaminal spectral modulations

Two monkeys (*M. mulatta*) were trained in an SCT where animals tapped on a push-button to produce a sequence of three intertap intervals guided by isochronous stimuli, followed by three intertap intervals without sensory guidance. Thus, the SCT has a sensory-guided phase called synchronization and an internally driven phase called continuation (Fig. 1A; see Materials and Methods). Brief auditory or visual interval markers were used to guide behavior during the synchronization phase and 5 target intervals were used ranging from 450 to 1000 ms. Once the animals reached a performance of >75% of correct trials, LFPs and single-unit recordings were performed in the dorsal putamen during task performance (Fig. 1B–D). Comprehensive analyses of the monkeys' behavior were described previously (Zarco et al., 2009; Merchant et al., 2013b). Briefly, the monkeys underestimated the intervals by ~35 ms across target intervals, and their temporal variability followed the scalar property of interval timing (Gibbon et al., 1997; Merchant et al., 2008; Donnet et al., submitted), namely, they showed a linear increase in the variability of the produced intervals as a function of the interval duration.

The multitaper Fourier transform was performed to obtain spectral power estimates of LFPs aligned to the tap movements during the execution of the SCT (see Materials and Methods). Detailed analyses of the spectrograms performed for frequencies ranging from 5 to 120 Hz revealed clear time-varying modulations in power for the  $\beta$ - (10–30 Hz) and  $\gamma$ - (30–80 Hz) bands (Fig. 2). Figure 3A–C shows an example from a single recording site in which the LFP showed transient bursts of increased power in the  $\gamma$ -band after each button-press for all durations. Across recordings, the mean duration for transient, high amplitude bursts during task performance was 159.3 and 159.5 ms for the  $\beta$ - and  $\gamma$ -bands, respectively. Interestingly, the high amplitude bursts in the example of Figure 3 also showed a larger power modulation for longer interval durations, and this was more evident when the power z-scores were integrated across frequencies, as depicted in Figure 3B. Overall, a large proportion of recording sites showed a significant effect of interval duration on the integrated power (Friedman test; Table 1). Indeed, when the integrated power of Figure 3B was plotted as a function of interval duration, a clear interval tuning was observed in the LFP oscillation



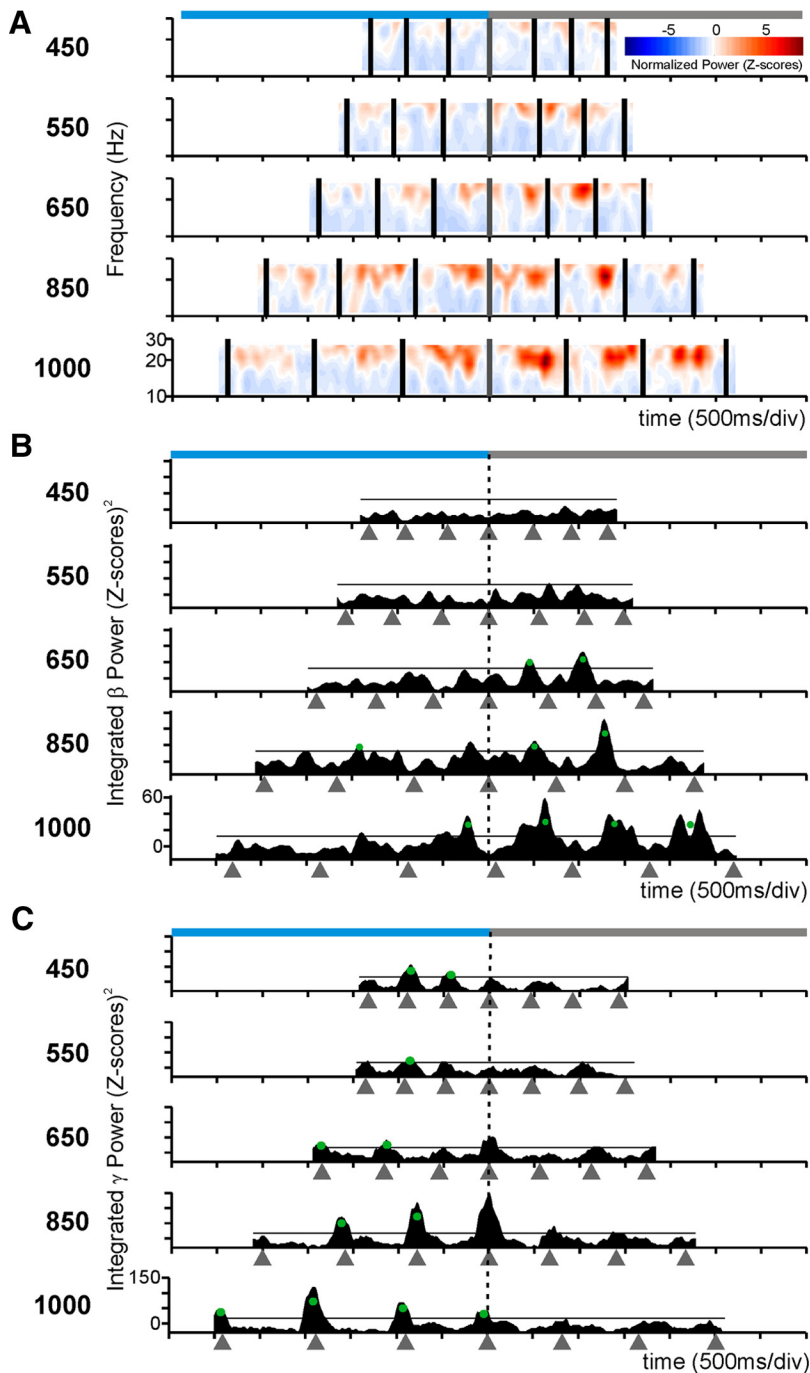
**Figure 4.** Distribution of preferred interval durations separated by frequency band ( $\beta$  or  $\gamma$ ) and modality (auditory or visual).

tory activity, and Gaussian function fittings revealed that the  $\gamma$ -band power showed preferred intervals ~900 ms across the six elements of the SCT sequence (Fig. 3C). Interval tuning was also observed in the  $\beta$ -band (Fig. 3D–F).

At the population level, the distributions of preferred intervals showed a bias toward intervals ~850 ms in both frequency bands and for both interval marker modalities (see Table 3; Fig. 4; medians  $A\beta$ , 822.6;  $V\beta$ , 822.1;  $A\gamma$ , 819.7;  $V\gamma$ , 822). It is evident in Figure 4 that more recording sites were tuned in the  $\beta$ - than the  $\gamma$ -band, although in both cases there is a wide range of preferred intervals represented in the putamen. Therefore, these results suggest that the putamen contains a representation of interval duration, where different local cell populations oscillate in the  $\beta$ - or  $\gamma$ -bands for specific intervals during the SCT.

### Duration and serial-order selectivity of spectral modulations

Figure 5 shows the spectrograms (Fig. 5A) and the time series of the integrated power (Fig. 5B) for the  $\beta$ -band of an LFP recording that was tuned for longer interval durations. In addition, this LFP showed an orderly change in the power for the serial order of the SCT, with a peak in oscillatory activity during the first two elements of the continuation phase of the SCT, describing a tuning curve. Figure 5C shows a different LFP where the  $\gamma$ -band was simultaneously tuned to longer durations and to the synchronization phase. Indeed, the oscillatory activity of a large proportion of LFPs of the putamen in the  $\beta$ - and  $\gamma$ -bands showed simultaneous selectivity to interval duration and serial order. Table 1 indicates that a large number of the recording sites showed significant effects of duration and serial order in both frequency



**Figure 5.** Dual selectivity to the interval duration and the task phase in the LFP  $\beta$  power. **A**,  $\beta$ -Band spectrogram of an LFP recording with power increments during the continuation phase of long interval durations. **B**, Integrated power of the  $\beta$ -band for the spectrogram in **A**. **C**, Integrated power of the  $\gamma$ -band of another LFP with larger oscillatory activity for longer durations during the synchronization phase in the visual condition. The same conventions as in Figure 3.

bands (Friedman tests,  $p < 0.05$ ). In contrast, there was a small number of nonselective LFPs with power modulations of similar magnitude across the six elements of the SCT sequence and all durations and were classified as sensorimotor responses (Table 1; Fig. 6). Collectively, these findings provide evidence for the coexistence of neural signals associated with the organization of sequential motor behavior and the produced duration during the SCT in the putamen (Figs. 4 and 5). Below we describe how the tuning for interval and serial order in putaminal cells is related with the tuning of the oscillatory activity in the LFPs for these parameters of the task.

### Sequential selectivity in the oscillatory activity

The magnitude of the integrated power in LFPs with significant effects of serial order (Friedman tests,  $p < 0.05$ ) was segregated in two functionally distinct categories using a clustering algorithm as depicted in Figure 7 (see Materials and Methods). Each row in Figure 7 shows the normalized integrated power for each LFP recording, and each column represents the six intervals in the SCT sequence (three for the synchronization and three for the continuation phase). The first category may encode the ordinal structure of the task sequence because the LFPs spectral power showed greater modulations during one or two consecutive elements of the sequence and were considered ordinal-selective (Table 2; Fig. 7). For example, the initial group of LFPs with high (black) integrated power on the first interval of the synchronization phase was clustered as ordinal-selective to S1. These LFPs confirm the well-known ordinal sequential movement activity in the basal ganglia (Kermadi and Joseph, 1995; Mushiake and Strick, 1995) is also present during the execution of the SCT. In contrast, the second category consisted of LFPs that showed high oscillatory activity during the whole synchronization or continuation phase of the SCT (Fig. 7, Sync or Conti on the right legend). This type of phase-selective response was associated with the temporal information processing during sensory-guided (synchronization) or internally driven (continuation) production of rhythmic movements.

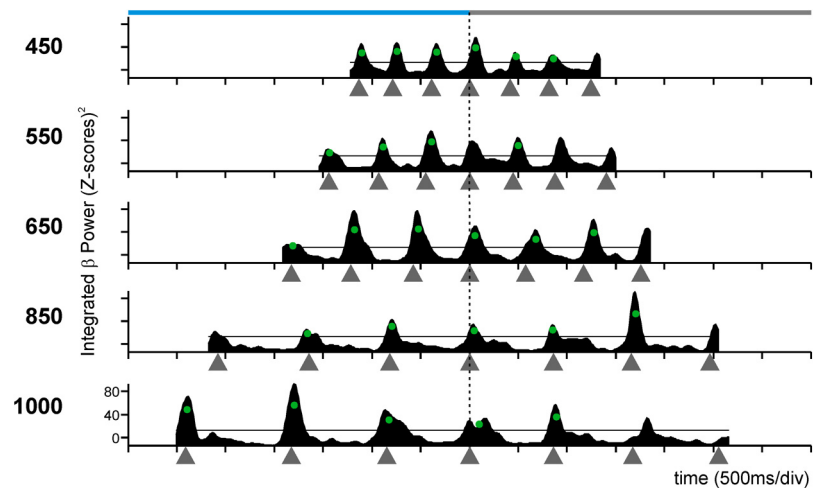
We fitted Gaussian functions to the integrated power of the  $\beta$ - and  $\gamma$ -bands as a function of the serial order of the SCT, to detect whether tuning functions occurred also for serial order as they occurred for duration. As expected, a large proportion of LFPs were significantly tuned to the serial order (Table 3). There was a significant bias ( $\chi^2$  test,  $p < 0.001$ ) toward the continuation phase in the preferred serial order for the  $\beta$ -band across interval marker conditions (Fig. 8, filled bars). In contrast, the sequential tuning in the  $\gamma$ -band showed a significant bias ( $\chi^2$  test,  $p = 0.0016$ ) toward the synchronization phase (Fig. 8, filled bars). Overall, these findings support the notion that the internal generation of rhythmic movements was associated with the entrainment of putaminal circuits that oscillate in the  $\beta$ -frequencies.

On the other hand, spikefield synchrony in the  $\gamma$ -band may be used for computations of sensory timed movements. A prediction of this hypothesis is that, if we align the spectrograms to the times of stimuli instead of tapping times as in the previous anal-

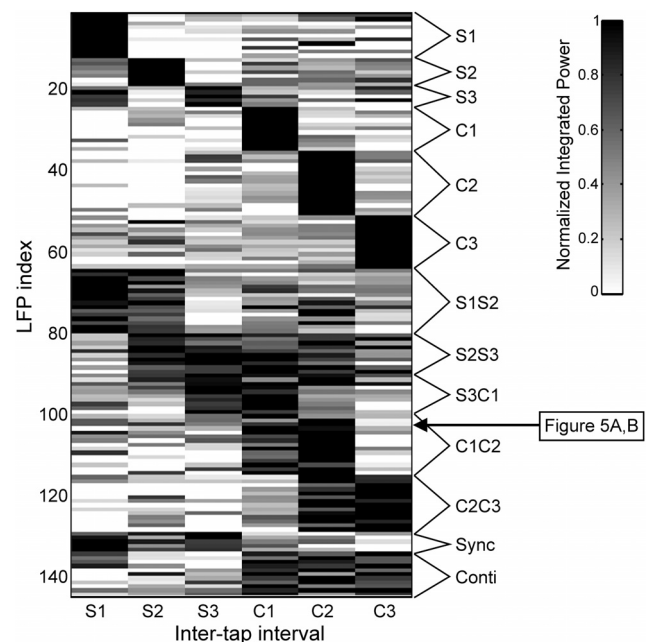


ysis, we would find more LFPs with tuned  $\gamma$  activity. Indeed, when we performed the analyses using stimulus-aligned spectrograms, we found that there were more LFPs with sequence-tuned  $\gamma$ -activity, whereas the number of LFPs with tuned  $\beta$ -activity was similar to the one obtained from tap-aligned spectra (Fig. 8, empty bars). Furthermore, the tuning bias toward the synchronization phase of the SCT was larger for the  $\gamma$ -spectrograms aligned to the stimulus than to the taps ( $\chi^2$  test,  $p < 0.0001$ ). In contrast, for  $\beta$  the distribution of preferred serial order was biased toward the continuation phase only when tap-aligned ( $\chi^2$  test,  $p < 0.0001$ ) and similar across task phases when stimulus-aligned ( $\chi^2$  test,  $p = 0.2121$ ). To assess overall statistical effects, we constructed a binary-logistic dependent variable to be used to performed a Generalized Linear Model analysis, the value of the binary variable was 1 when tuning was found in a given task phase (S or C) using a given alignment (Taps or Stimuli) for each frequency band ( $\beta$  or  $\gamma$ ), 0 otherwise. The model included the phase  $\times$  band, phase  $\times$  alignment, task  $\times$  band  $\times$  alignment interactions. The analysis revealed significant effects of the phase  $\times$  band (Wald  $\chi^2 = 16.645$ ,  $p < 0.001$ ) and phase  $\times$  alignment (Wald  $\chi^2 = 93.053$ ,  $p < 0.001$ ) interactions, but only a marginal effect on the three-way task  $\times$  band  $\times$  alignment interaction (Wald  $\chi^2 = 5.385$ ,  $p = 0.068$ ).

From the results shown in Figure 8, we can ask how many LFPs are tuned to serial order when the spectrograms are aligned to the stimuli and/or the tapping times. For each frequency band, we found a population of LFPs for which serial-order tuning was similar between the two alignments (resistant-tuned, green overlap in the Venn diagrams of Fig. 9A), and two additional populations that showed serial-order tuning for only one alignment (stimulus-tuned and tap-tuned; red and blue circles, respectively, in the Venn diagrams of Fig. 9A). The proportion between these three populations was significantly different across frequency bands ( $\chi^2$  test,  $p < 0.0001$ ). The distribution of preferred serial order for the  $\beta$ -activity was clearly tuned for the continuation phase when tap-aligned; in contrast, the stimulus-tuned LFPs in this  $\beta$ -band were less numerous and did not show a bias toward the continuation phase (Fig. 9B). A Kolmogorov–Smirnov test revealed a significant difference between tap- and stimulus-aligned preferred serial order  $\beta$ -band distributions ( $p < 0.0001$ ). For the  $\gamma$ -activity, we found an inverse relationship, namely, when stimulus-aligned the LFPs tuned were more numerous and more biased toward the synchronization phase than when tap-aligned (Fig. 9B). The distributions of preferred serial order for the  $\gamma$ -band were significantly different when tap- versus stimulus-aligned (Kolmogorov–Smirnov test,  $p = 0.0449$ ). On the contrary, the resistant-tuned population showed similar distributions for both alignments in both frequency bands (Fig. 9C), with no significant difference across alignments (Kolmogorov–Smirnov test,  $\beta$ ,  $p = 0.96$ ;  $\gamma$ ,  $p = 0.2$ ). Together, these results strongly support the hypothesis that  $\gamma$ -activity is sensory-driven, in accordance with studies that suggest that  $\gamma$ -band activity in the striatum occurs in association with the integration of sensory



**Figure 6.** Integrated power of a recording site with sensorimotor responses. The  $\chi^2$  test revealed that the modulations were uniformly distributed across durations and serial order ( $p > 0.05$ ). The same conventions as in Figure 3B.



**Figure 7.** LFP selectivity to the serial order and task phase during the SCT. K-means clustering of the normalized probability of power increments in the  $\beta$ -band for the LFP recordings that showed significant effects on serial order (Friedman test) during the visual interval marker condition. The data were classified as sequence selective to one, two or three consecutive elements of the SCT according to the magnitude of the power modulations (grayscale). Each row corresponds to one LFP recording, and each column corresponds to one element of the SCT sequence. The arrow corresponds to the LFP recording shown in Figure 5A, B.

information and associative learning (Howe et al., 2011), whereas  $\beta$ -activity is related to the endogenously driven tapping behavior.

### The coherence in the oscillatory activity was local during $\gamma$ bursting but global during $\beta$ activity

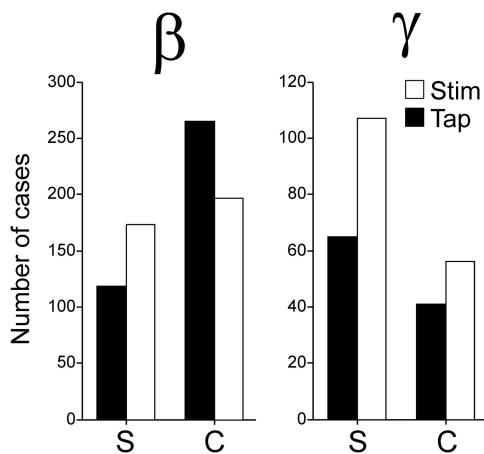
There is evidence suggesting that  $\gamma$ -oscillations are locally generated, whereas  $\beta$ -bursts are generated by broad circuits within a structure (Courtemanche et al., 2003; Howe et al., 2011), or even spread across distant structures (Kay and Beshel, 2010; Leventhal et al., 2012). Hence, we wanted to know whether the LFPs tuned for serial order showed the same degree of anatomical specificity between bands. First, we found that a larger proportion of the

**Table 2.** Number of LFPs whose integrated power during the visual and auditory conditions of the SCT was classified as follows: serial order selective, responding during one or two consecutive elements of the six interval sequence; or phase selective, responding during the whole synchronization or continuation phase

Classification	$\beta$		$\gamma$	
	Auditory	Visual	Auditory	Visual
Serial order selective	125	128	110	99
Phase selective	15	17	25	25
Total analyzed	168	181	150	138

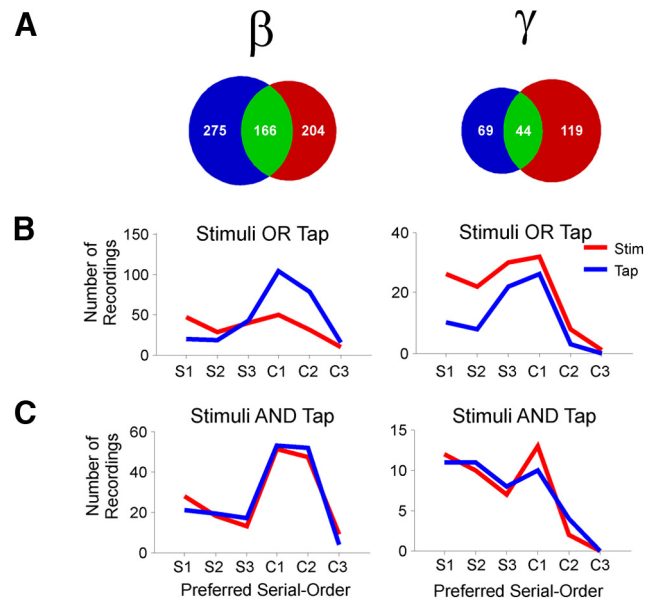
**Table 3.** Number of LFP recordings that showed significantly tuned modulations in the  $\beta$ - and/or  $\gamma$ -band

Modality	Duration tuned		Sequence tuned		Duration and sequence tuned	
	Auditory	Visual	Auditory	Visual	Auditory	Visual
$\beta$	47	64	49	51	67	67
$\gamma$	18	18	20	23	13	10
$\beta$ and $\gamma$	8	6	4	8	5	4



**Figure 8.** Total number of LFPs with preferred serial order during the synchronization (S) or continuation (C) phase of the SCT across frequency bands ( $\beta$  or  $\gamma$ ) pooling auditory and visual marker data. Filled and empty bars represent tuned LFPs when aligned to tap times or stimuli times, respectively. The difference between task phases was significant for tap-aligned LFPs in both bands ( $\chi^2$  test,  $p < 0.002$ ), but only for the  $\gamma$ -band for the stimulus-aligned LFPs ( $\chi^2$  test,  $p < 0.0001$ ).

LFPs tuned to serial order were recorded simultaneously in the  $\beta$ -band (auditory, 29.47%; visual, 34.03%) than the  $\gamma$ -band (auditory, 4.5%; visual, 4.2%). This is an indirect measure of global entrainment in the  $\beta$ -band and local  $\gamma$ -activity because we recorded the simultaneous activity of seven electrodes during task performance. Next, for each band, we analyzed the coherence between pairs of simultaneously recorded LFPs that were sequence-tuned as a function of the distance between recording sites. Our electrodes had a linear arrangement with an interelectrode separation of 300  $\mu\text{m}$ . Thus, knowing the depth at which every electrode was located during the recording session, we were able to estimate the distance between electrode tips. The results showed that the coherence magnitude was larger for  $\beta$ - than for  $\gamma$ -band activity, with a small decrease in coherence magnitude as a function of the distance between recording sites in both bands (Fig. 10A). A two-way ANOVA for coherence magnitude showed significant main effects for band ( $F_{(1,768)} = 469.35, p < 0.0001$ ) and intertip distance ( $F_{(6,768)} = 5.3, p < 0.0001$ ), as well as in the band  $\times$  distance interaction ( $F_{(6,768)} = 3.3, p = 0.0033$ ). In addition, the absolute phase angle between coherent oscillations was



**Figure 9.** Distribution of preferred serial order across frequency bands ( $\beta$  or  $\gamma$ ) and signal alignments (Tap or Stimuli). **A**, Venn diagrams showing the different sets of serial order tuned LFPs, namely, only tuned when aligned to tapping times (blue), only tuned when aligned to stimuli times (red), or tuned in both alignments (green). **B**, Distributions of the preferred serial order of LFPs tuned when tap-aligned only (blue) or stimulus-aligned only (red). The six elements of the task sequence are depicted in the horizontal axis: S1–S3, the synchronization phase; and C1–C3, the continuation phase. **C**, Preferred serial order of LFPs from the green sets in **A**, namely, for those LFPs that were tuned to serial order when aligned to both the tap (blue) and the stimulus (red).

larger for the  $\gamma$ - than the  $\beta$ -band, with a larger increase in the phase of coherence as a function of recording distance for the  $\gamma$ - than the  $\beta$ -band (Fig. 10B). Significant main effects of band ( $F_{(1,756)} = 70.35, p < 0.0001$ ) and intertip distance ( $F_{(6,756)} = 4.62, p = 0.0001$ ), as well as in the band  $\times$  distance interaction ( $F_{(6,756)} = 2.93, p = 0.0079$ ) were found on the phase angle. Hence,  $\beta$ -oscillations were largely coherent and in phase between recording distances spanning as much as 7.3 mm, whereas  $\gamma$ -band activity showed both small coherence between recording sites and a large increment in the phase as the distance between electrode tips increased. Together, these results support the notion that  $\gamma$ -oscillations are locally generated, whereas  $\beta$ -activity involves synchronous activity of large putaminal ensembles.

**The spiking activity of putaminal neurons is entrained with  $\beta$  and  $\gamma$  oscillations**

It was important to establish whether the recorded LFP oscillations were related to putaminal neural activity at the recording site, and not simply volume-conducted from nearby structures without any relationship to the neostriatal processing of temporal and sequential information. To tackle this issue, we performed a spike-LFP phase locking analysis. First, we looked for periods of high amplitude bursts of oscillatory activity ( $z$ -score  $> 1.96$ ) on the bandpass filtered and  $z$ -scored LFP traces for  $\beta$ - and  $\gamma$ -bands independently. Then, we determined the phase between spikes and the oscillatory bursts (Fig. 11A) and tested whether the spiking activity was significantly phase-locked with the oscillations recorded by the same electrode (Rayleigh test,  $p < 0.05$ ). We found that  $\sim 16\%$  of all neurons (total  $n = 520$ ) were phase-locked during bursts of  $\beta$  activity, and this proportion was even higher,  $\sim 27\%$ , during bursts of  $\gamma$ -activity. When the proportion of phase-locked neurons was calculated using only LFPs that were

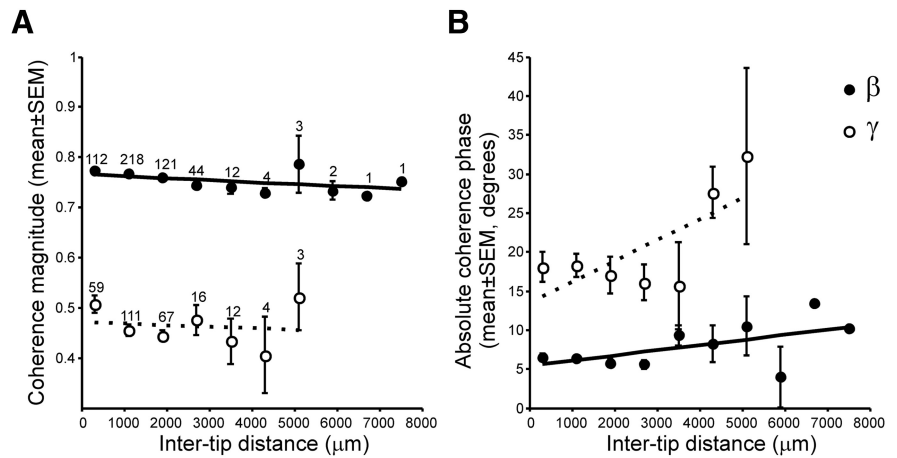
tuned to duration and/or serial order ( $\beta$ A,  $n = 406$ ;  $\beta$ V,  $n = 465$ ;  $\gamma$ A,  $n = 160$ ;  $\gamma$ V,  $n = 154$ ), we found an increase to  $\sim 42\%$  during bursts of  $\beta$  activity (auditory, 41.63%; visual, 42.15%), and the proportion was nearly the same during  $\gamma$ -activity (auditory, 42.85%; visual, 43.95%). On the other hand, the average phase of the spikes during bursts of activity remained almost the same independently of the frequency band (Fig. 11B), occurring before the troughs ( $270^\circ$ ) of the oscillations (mean phase:  $\beta$ ,  $204.5^\circ$ ;  $\gamma$ ,  $203.3^\circ$ ). These results show a clear relationship between spiking responses and oscillations in both frequency bands and suggest that the oscillatory activity is functionally related with the local striatal activity and the cell tuning during SCT performance, a phenomenon that we describe below.

**On the relations between spiking and oscillatory activity for interval and serial-order tuning**

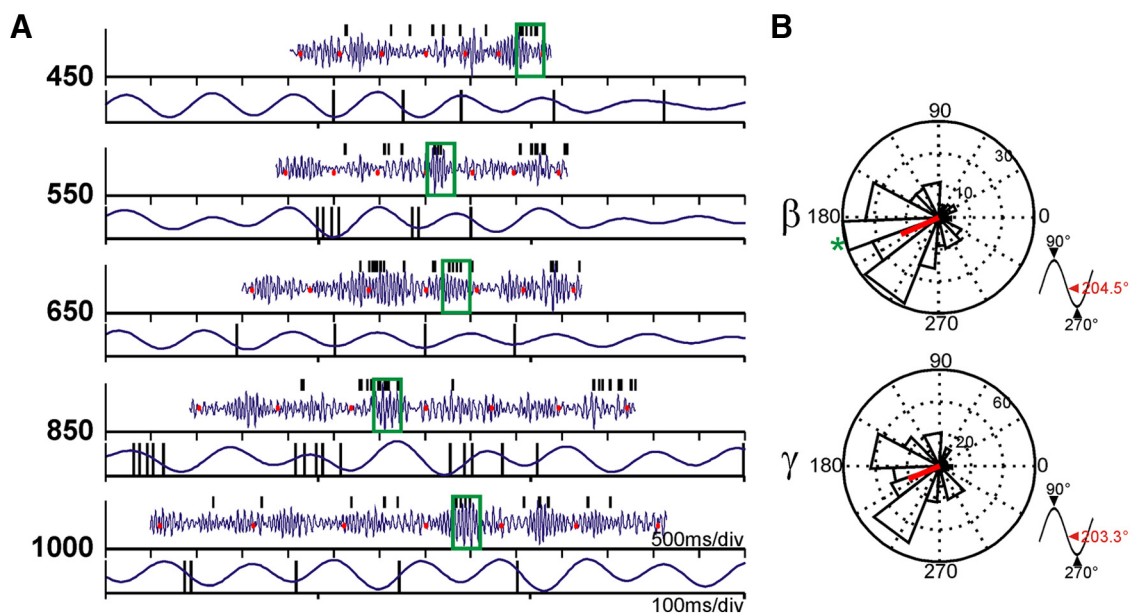
We also determined the tuning properties on the discharge rate of putaminal cells recorded in the same electrodes than the LFPs during the execution of SCT. To this end, we performed an initial ANCOVA where the discharge rate was used as the dependent variable, the discharge rate during the key holding control epoch as the covariate, and the interval duration or the serial order of the SCT as the factor. Because the duration of target intervals varied systematically in our tasks, we could not use a fixed temporal window to compute the discharge rate of the cells. Alternatively, we used the Poisson train analysis (Merchant et al., 2001) to identify the periods of cell activation within each produced interval. Next, we fitted Gaussian functions to the discharge rate of cells

as a function of interval or serial order on the cells with significant ANCOVA effects on the corresponding factor. Of 366 putaminal neurons recorded during the SCT, 98 and 78 were tuned for interval during the auditory and visual conditions, respectively, whereas 84 and 80 neurons were tuned for serial order during the auditory and visual conditions, respectively. These results indicate that the cells in the putamen show similar functional properties to the medial premotor neurons (Merchant et al., 2013b), implicating the CBGT in the encoding of the temporal and sequential structure of the SCT (Merchant and Honing, 2014).

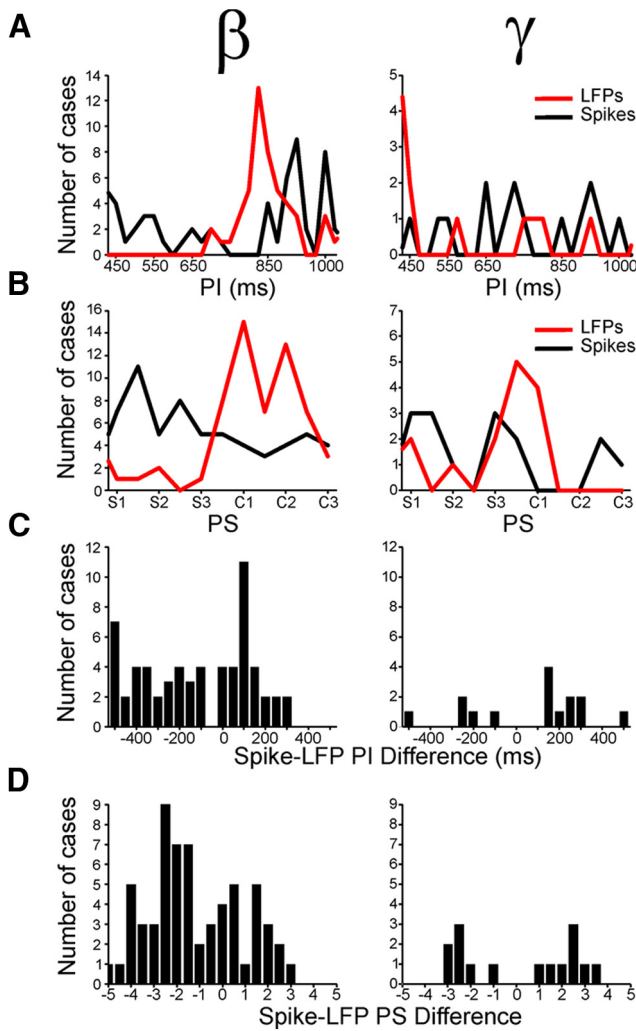
As a subsequent step, we compared the tuning properties of cells and LFPs in the putamen. The distribution of preferred intervals across the population of significantly tuned cells is displayed as a black line in Figure 12A, together with the distribution



**Figure 10.** Coherence analysis. **A**, Mean coherence magnitude ( $\pm$ SEM) as a function of the distance between the electrode tips. Distance bins are 800  $\mu$ m wide. Numbers above each dot indicate the number of cases (same for magnitude and phase). **B**, Mean coherence phase angle ( $\pm$ SEM) as a function of distance. Open circles represent  $\beta$ -band; filled circles represent  $\gamma$ -band. Dotted and solid lines indicate the linear regression fits for  $\beta$ - and  $\gamma$ -band, respectively.

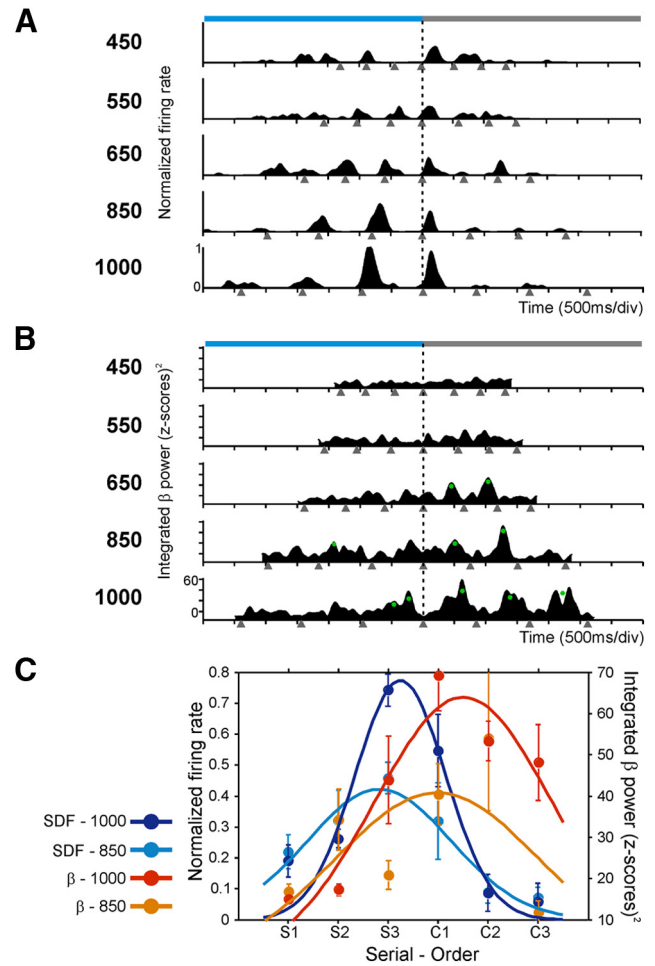


**Figure 11.** Phase locking of unitary spikes with LFP oscillations. **A**, Representative  $\beta$  bandpass filtered and normalized LFP traces (blue) and the corresponding spikes from a single unit in the same recording site (black ticks). Tapping times are displayed as red dots. For each target interval, the top shows the LFP signal of a whole trial, where the segment enclosed within the green box is amplified in the bottom. **B**, Phase histograms showing the mean phases of all significantly phase-locked units to  $\beta$  or  $\gamma$  LFP activity. The red line indicates the mean resultant vector of the population. Bottom right insets, Location of the mean population phase in a standard sinusoid. The green asterisk in the  $\beta$  histogram indicates the phase of unit in **A**.



**Figure 12.** Distributions of preferred intervals (PI) and preferred serial order (PS) for cells and LFPs simultaneously recorded in the same electrode. *A*, Distributions of PI for spiking activity (black line) and  $\beta$  (left) or  $\gamma$  (right) LFPs (red line) that were tuned to interval. *B*, Distributions of PS for spiking activity (black line) and  $\beta$  (left, red line) or  $\gamma$ -band oscillations (right, red line) that were tuned to serial order. *C*, Distributions of the difference in PI between spikes and LFPs for the  $\beta$ - (left) and  $\gamma$ -band (right). *D*, Distributions of the PS difference between spikes and LFPs for the  $\beta$ - (left) and  $\gamma$ -band (right).

of preferred intervals for the oscillatory activity of the LFPs recorded in the same electrodes, for the  $\beta$ - and  $\gamma$ -bands independently (red line, Fig. 12*A*, left and right, respectively). Three important facts can be extracted from these data. First, more cells were interval tuned for electrodes where also the LFPs were tuned for the  $\beta$ - with respect to the  $\gamma$ -band ( $\chi^2$  test,  $p < 0.0001$ ). This suggests that the oscillatory activity in  $\beta$  is more closely associated with the cell activity encoding interval duration than the  $\gamma$ -band. Second, although the distributions of preferred intervals for both the spiking and  $\beta$ -activity are tilted toward large intervals, the distribution for the cell activity peaks at smaller intervals (peak 825 ms) than the corresponding LFPs in the  $\beta$ -band (peak at 900 ms). Indeed, the difference in preferred intervals between spikes and  $\beta$  LFPs was tilted toward negative values with a median of  $-98$  ms, indicating that the spikes showed significantly smaller preferred intervals than their simultaneously recorded  $\beta$  LFPs ( $t$  test,  $p < 0.0001$ ; Fig. 12*C*, left). Finally, the interval tuning of cells and the corresponding  $\gamma$  activity, when present, was similar in these two electrophysiological signals ( $t$  test,  $p = 0.28$ ; Fig. 12*A*,



**Figure 13.** Serial-order selectivity of the activity of a cell and the  $\beta$  power that were simultaneously recorded in the same electrode. *A*, Spike density functions of a cell that was selective for long durations through the last interval of the synchronization and the first interval of the continuation phase of the SCT. *B*, Integrated power of the corresponding  $\beta$ -band activity that was tuned also for long durations, but during the first two intervals of the continuation phase. This implies that the cell activity preceded the changes in the power of  $\beta$  oscillations. Same conventions as in Figure 5. *C*, Serial-order tuning in the spike density functions and in the integrated  $\beta$  power. Dots are the mean  $\pm$  SEM, and lines indicate the fitted Gaussian functions. Tuning functions were calculated for each target interval across the serial order sequence S1–C3 and are color-coded (inset). Only fittings for the intervals of 850 and 1000 ms are shown.

right), with a distribution of the difference in preferred intervals between spikes and  $\gamma$  LFPs slightly tilted toward positive values (median, 160 ms; Fig. 12*C*, right).

Similar properties were observed for the relation between the serial-order tuning of the spiking and the oscillatory signals recorded simultaneously, with a stronger relation between spikes and  $\beta$ - than spikes and  $\gamma$ -band ( $\chi^2$  test,  $p < 0.0001$ ). The distribution of preferred serial order for the  $\beta$ -band was strongly tilted toward the continuation phase (median, 4.3; Fig. 12*B*, left red), whereas the corresponding distribution for the cell activity was clearly skewed toward the synchronization phase of the SCT (median, 2.4; Fig. 12*B*, left black), with a significant difference between the two distributions (Kolmogorov–Smirnov test,  $p < 0.00001$ ). Again, the difference in preferred serial order between spikes and  $\beta$  LFPs was tilted toward negative values with a median of  $-1.61$ , demonstrating that spikes discharged before the changes in  $\beta$ -power that were related to the serial order of the SCT (Fig. 12*D*, left). Indeed, Figure 13*A* shows the instantaneous discharge rate of a cell that was selective for long durations



**Table 4. Number of recordings that showed LFP power and/or spike activity that were tuned to duration and serial order<sup>a</sup>**

Modality	Duration tuned						Serial order tuned					
	$\beta$		$\gamma$		$\beta/\gamma$		$\beta$		$\gamma$		$\beta/\gamma$	
	Auditory	Visual	Auditory	Visual	Auditory	Visual	Auditory	Visual	Auditory	Visual	Auditory	Visual
Total tuned LFPs	122	140	33	33	17	11	119	132	36	35	11	13
LFPs tuned/spike not tuned	83	100	21	26	11	10	96	103	36	27	10	8
LFPs tuned/spikes tuned	16	21	5	6	5	0	18	21	0	6	0	4
Tuned LFPs/spike ANOVA	23	19	7	1	1	1	5	8	0	2	1	1

<sup>a</sup> $\chi^2$  tests revealed significant differences between  $\beta$  and  $\gamma$  for duration-tuned LFPs as well as for serial order tuned LFPs ( $p < 0.0001$ ).

through the last interval of the synchronization and the first interval of the continuation phase of the SCT. Consistent with the data of Figure 12, the integrated power in  $\beta$ -band for the LFP recorded in conjunction with the cell, the oscillatory activity was tuned for long durations, predominantly during the first two intervals of the continuation phase (Fig. 13B). This implies that the cell activity preceded the serial order changes in the power of  $\beta$ . Finally, there was a weak association between the cell response and the  $\gamma$ -oscillations that were selective to serial order. However, when present, the preferred serial order was similar between the two signals ( $t$  test,  $p = 0.96$ ; Fig. 12B, right), and the difference in preferred serial order between spikes and  $\gamma$ -oscillations was centered  $\sim 0$  (median, 0.13 ms; Fig. 12D, right). Together, these findings suggest that the oscillatory activity in  $\beta$  was more associated with the cell activity encoding interval duration and serial order than the  $\gamma$ -band (see also Table 4).

## Discussion

This paper found tuning for interval and/or serial order as an orderly change in the power of transient modulations in the  $\beta$ - and  $\gamma$ -bands across putaminal LFPs during the execution of the SCT. A large number of LFPs were tuned to duration, especially in the  $\beta$ -band, and all possible preferred durations were represented in both bands. Remarkably, there was a strong bias in the serial order tuned sites toward the continuation phase for the  $\beta$ -band when the activity was aligned to the taps; whereas in  $\gamma$ -band, the bias was toward the synchronization phase of the SCT, especially when the spectrograms were aligned to the stimuli. In addition, a group of putaminal neurons became entrained to  $\beta$ - and  $\gamma$ -oscillations, and strong tuning relations between LFPs and neurons were observed, particularly between the  $\beta$ -band and the spikes, suggesting that both rhythms are relevant for the firing activity of this area. Analysis of coherence between simultaneously recorded LFPs tuned to serial order showed that  $\beta$ -oscillations were largely coherent and in-phase at large recording distances, whereas  $\gamma$ -band activity showed small coherence and a large increment in the phase as a function of the interelectrode distance. Hence, the results are consistent with the hypothesis that  $\gamma$  is used for local computations associated with the sensory processing inherent to the synchronization phase, whereas  $\beta$  oscillations are used for high-level interactions involving large areas of the putamen, and probably also other elements of the CBGT circuit, during the execution of internally driven rhythmic behaviors.

Neural tuning is widely used to encode sensory, cognitive, and motor information (deCharms and Zador, 2000). Neurons in cortical and subcortical structures carry information about a limited range of values or a particular behavioral feature, with an orderly decrease in discharge rate around a preferred value (Merchant et al., 2012). In addition, tuning can be observed in both the cells' discharge rate and the power of oscillatory activity of LFPs in different areas and for different behavioral features, such as

tuning to the direction of movement in M1 (Georgopoulos et al., 1982; Paninski et al., 2004) or speed and direction of visual stimuli in MT (Liu and Newsome, 2006), indicating a functional coupling between the two signals. The match in the feature preference between LFP and single neurons recorded from the same electrode is explained by the signal pooling from neuronal groups with similar stimulus preferences by the LFP (Lashgari et al., 2012). Nevertheless, the tuning association between spiking activity and LFPs is not always obvious because the latter is a complex signal that depends on the following factors: the input activity of an area in terms of population excitatory and IPSPs, the regional processing of the microcircuit surrounding the recording electrode, the cytoarchitecture of the studied area, and the temporally synchronous fluctuations of the membrane potential in large neuronal aggregates (Buzsáki et al., 2012). Despite this complexity, it has become evident that nonspiking signals can provide a source of information about behavior (Mehring et al., 2003; Schalk et al., 2007; Waldert et al., 2008; Zhuang et al., 2010). In the present study, we show that putaminal neurons became entrained to  $\beta$ - and  $\gamma$ -oscillations, indicating that both bands are relevant to the firing patterns of putaminal cells and that the tuning to duration and/or serial order in the rhythmic activity of LFPs were generated, at least in part, within the putamen. Indeed, a detailed comparison in the tuning properties of spikes and LFP oscillations recorded from the same electrode showed strong relations between these two signals during the SCT. The oscillatory activity in  $\beta$  was more associated with the cell activity encoding interval duration and serial order than the  $\gamma$ -band, and the cell activity preceded the changes in the power of  $\beta$ . Similar observations have been reported in the motor system during reaching and grasping behaviors (Murthy and Fetz, 1996; Brown and Williams, 2005; Witham and Baker, 2012).

It has been suggested that the corticostriatal circuits play an important role in interval timing. The Striatal Beat-Frequency Theory (Matell and Meck, 2004; Buhusi and Meck, 2005; Meck, 2006) proposes that timing can emerge by coincidence detection processes for which corticostriatal circuits are particularly well suited. In the present paper, we found that the spiking responses and the rhythmic activity in the  $\beta$ - and  $\gamma$ -bands in the putamen were tuned to specific durations, suggesting the existence of duration-specific circuits as predicted by behavioral studies (Wright et al., 1997; Nagarajan et al., 1998; Bartolo and Merchant, 2009). Although all the tested durations were represented across cells and LFPs, there was a bias in the distribution of preferred durations toward intervals  $\sim 800$  ms, which is similar to the bias of preferred durations for single cells in the medial pre-motor cortex (MPC) (Merchant et al., 2013b). This bias could be associated with the preferred tempo in Rhesus monkeys. Indeed, the preferred tempo in humans is  $\sim 600$  ms (Fraisse, 1982; Collyer et al., 1994), and a recent study showed that a chimpanzee had also a preferred tempo of 600 ms (Hattori et al., 2013). Now,



neurons in MPC show responses that multiplex the ordinal and temporal structure of rhythmic movements (Merchant et al., 2013b). In addition, independent studies have described neural responses associated to interval duration or organization of movement sequences in the neostriatum (Kermadi and Joseph, 1995; Miyachi et al., 1997; Meck et al., 2008; Jin et al., 2009) and MPC (Tanji and Shima, 1994; Mita et al., 2009). Furthermore, patients with Parkinson's disease (PD) have clear deficiencies in the organization of sequential and temporal aspects of motor behavior (Ferraro et al., 1993; Harrington et al., 1998; Helmuth et al., 2000; Merchant et al., 2008a). MPC is strongly connected with the putamen (Haber, 2003; Lehericy et al., 2004) and is a critical node of the CBGT circuit (Parent and Hazrati, 1995; Middleton and Strick, 2000). Hence, these previous observations and the current data suggest that tuning to duration and serial order is an encoding strategy used along the CBGT circuit to represent the temporal and sequential structure of rhythmic movements.

Abnormal  $\beta$ -oscillations have been found in the CBGT circuit of PD patients (Levy et al., 2002; Weinberger et al., 2009). In addition,  $\beta$ -power is reduced by treatments that improve bradykinesia and rigidity, such as dopamine replacement therapy (Brown et al., 2001; Levy et al., 2002) and deep brain stimulation (Kühn et al., 2008). Hence, the current hypothesis is that the abnormally strong  $\beta$  in PD may reflect over-stabilization of the CBGT network, producing pathological persistence of the current motor state (Hammond et al., 2007). Accordingly, the large-scale communication between areas through  $\beta$ -activity in healthy subjects has been associated with endogenously driven behaviors (Engel and Fries, 2010; Leventhal et al., 2012). A recent MEG study involving internalized timing of an auditory metronome showed phasic increments of  $\beta$ -activity, across the auditory and motor systems, that were dependent on the interstimulus interval and peaked just before each stimulus (Fujioka et al., 2012). Furthermore, transient increases of  $\beta$ -activity have been shown also during a beat perception task (Iversen et al., 2009). These observations suggest that  $\beta$ -activity is associated with the internal representation of sensorimotor and cognitive states, including the endogenous processing of temporal events. Our present results strongly support this hypothesis. Most of  $\beta$ -bursts that were tuned to serial order showed a preference for the continuation phase of the SCT, which is characterized by the internal generation of rhythmic movements. Consequently, these  $\beta$ -oscillations could be associated with the maintenance of a rhythmic set and the dominance of an endogenous reverberation in the CBGT circuit, which in turn could generate internally timed movements and override the effect of external events.

On the other hand,  $\gamma$ -bursts have been associated with sensory cued bottom-up behaviors in cortical and subcortical areas (Koppell et al., 2000; Berke, 2009; Fries, 2009). We found that  $\gamma$ -band modulations that were tuned to serial order showed a strong bias toward the synchronization phase when aligned to the stimuli. Hence, our results are consistent with the notion that  $\gamma$ -band predominates during sensory processing (Fries, 2009) or when changes in the sensory input or cognitive set are expected (Engel and Fries, 2010). The local processing of visual or auditory cues in the  $\gamma$ -band during rhythmic movements may serve for binding neural ensembles that processes sensory and motor information within the putamen (Fries et al., 2007; Uhlhaas et al., 2009). This sensorimotor integration could then be transmitted throughout the CBGT circuit. Needless to say, more experiments are required to get a better understanding on how oscillatory processes with different carrier frequencies (i.e.,  $\gamma$  and  $\beta$ ) can be involved in bottom-up (e.g., synchronization phase) and top-down (e.g.,

continuation phase) processing and how they might actually interact at the local and global stages within the CBGT circuit.

## References

- Baker SN, Olivier E, Lemon RN (1997) Coherent oscillations in monkey motor cortex and hand muscle EMG show task-dependent modulation. *J Neurosci* 17:225–241.
- Bartolo R, Merchant H (2009) Learning and generalization of time production in humans: rules of transfer across modalities and interval durations. *Exp Brain Res* 197:91–100. [CrossRef Medline](#)
- Batschelet E (1981) *Circular statistics in biology*. London: Academic.
- Berens P (2009) *CircStat: a MATLAB Toolbox for circular statistics*. *J Stat Softw* 31:1–21.
- Berke JD (2009) Fast oscillations in cortical-striatal networks switch frequency following rewarding events and stimulant drugs. *Eur J Neurosci* 30:848–859. [CrossRef Medline](#)
- Brown P, Williams D (2005) Basal ganglia local field potential activity: character and functional significance in the human. *Clin Neurophysiol* 116:2510–2519. [CrossRef Medline](#)
- Brown P, Oliviero A, Mazzone P, Insola A, Tonali P, Di Lazzaro V (2001) Dopamine dependency of oscillations between subthalamic nucleus and pallidum in Parkinson's disease. *J Neurosci* 21:1033–1038. [Medline](#)
- Buhusi CV, Meck WH (2005) What makes us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing. *Nat Rev Neurosci* 6:755–765. [CrossRef Medline](#)
- Buzsáki G (2006) *Rhythms of the brain*. New York: Oxford UP.
- Buzsáki G, Anastassiou CA, Koch C (2012) The origin of extracellular fields and currents—EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nat Rev Neurosci* 13:407–420. [CrossRef Medline](#)
- Collyer CE, Broadbent HA, Church RM (1994) Preferred rates of repetitive tapping and categorical time production. *Percept Psychophys* 55:443–453. [CrossRef Medline](#)
- Courtemanche R, Fujii N, Graybiel AM (2003) Synchronous, focally modulated beta-band oscillations characterize local field potential activity in the striatum of awake behaving monkeys. *J Neurosci* 23:11741–11752. [Medline](#)
- deCharms RC, Zador A (2000) Neural representation and the cortical code. *Annu Rev Neurosci* 23:613–647. [CrossRef Medline](#)
- Donnet S, Bartolo R, Fernandes JM, Cunha JP, Prado L, Merchant H (2014) Monkeys time their pauses of movement and not their movement-kinematics during a synchronization-continuation rhythmic task. *J Neurophysiol* Submitted.
- Draper NR, Smith H (1981) *Applied Regression Analysis*. New York: Wiley.
- Engel AK, Fries P (2010) Beta-band oscillations—signalling the status quo? *Curr Opin Neurobiol* 20:156–165. [CrossRef Medline](#)
- Ferraro FR, Balota DA, Connor LT (1993) Implicit memory and the formation of new associations in nondemented Parkinson's disease individuals and individuals with senile dementia of the Alzheimer type: a serial reaction time (SRT) investigation. *Brain Cogn* 21:163–180. [CrossRef Medline](#)
- Fraisse P (1982) Rhythm and tempo. In: *Psychology of music* (Deutsch D, ed), pp 149–180. New York: Academic.
- Frey S, Pandya DN, Chakravarty MM, Bailey L, Petrides M, Collins DL (2011) An MRI based average macaque monkey stereotaxic atlas and space (MNI monkey space). *Neuroimage* 55:1435–1442. [CrossRef Medline](#)
- Fries P (2009) Neuronal gamma-band synchronization as a fundamental process in cortical computation. *Annu Rev Neurosci* 32:209–224. [CrossRef Medline](#)
- Fries P, Nikolić D, Singer W (2007) The gamma cycle. *Trends Neurosci* 30:309–316. [CrossRef Medline](#)
- Fujioka T, Trainor LJ, Large EW, Ross B (2012) Internalized timing of isochronous sounds is represented in neuromagnetic beta oscillations. *J Neurosci* 32:1791–1802. [CrossRef Medline](#)
- Georgopoulos AP, Kalaska JF, Caminiti R, Massey JT (1982) On the relations between the direction of two-dimensional arm movements and cell discharge in primate motor cortex. *J Neurosci* 2:1527–1537. [Medline](#)
- Gibbon J, Malapani C, Dale CL, Gallistel C (1997) Toward a neurobiology of temporal cognition: advances and challenges. *Curr Opin Neurobiol* 7:170–184. [CrossRef Medline](#)
- Haber SN (2003) The primate basal ganglia: parallel and integrative networks. *J Chem Neuroanat* 26:317–330. [CrossRef Medline](#)
- Hammond C, Bergman H, Brown P (2007) Pathological synchronization in

- Parkinson's disease: networks, models and treatments. *Trends Neurosci* 30:357–364. [CrossRef Medline](#)
- Harrington DL, Haaland KY, Knight RT (1998) Cortical networks underlying mechanisms of time perception. *J Neurosci* 18:1085–1095. [Medline](#)
- Harrington DL, Zimbelman JL, Hinton SC, Rao SM (2010) Neural modulation of temporal encoding, maintenance, and decision processes. *Cereb Cortex* 20:1274–1285. [CrossRef Medline](#)
- Hattori Y, Tomonaga M, Matsuzawa T (2013) Spontaneous synchronized tapping to an auditory rhythm in a chimpanzee. *Sci Rep* 3:1566. [CrossRef Medline](#)
- Helmuth LL, Mayr U, Daum I (2000) Sequence learning in Parkinson's disease: a comparison of spatial-attention and number-response sequences. *Neuropsychologia* 38:1443–1451. [CrossRef Medline](#)
- Howe MW, Atallah HE, McCool A, Gibson DJ, Graybiel AM (2011) Habit learning is associated with major shifts in frequencies of oscillatory activity and synchronized spike firing in striatum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:16801–16806. [CrossRef Medline](#)
- Iversen JR, Repp BH, Patel AD (2009) Top-down control of rhythm perception modulates early auditory responses. *Ann N Y Acad Sci* 1169:58–73. [CrossRef Medline](#)
- Jin DZ, Fujii N, Graybiel AM (2009) Neural representation of time in cortico-basal ganglia circuits. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:19156–19161. [CrossRef Medline](#)
- Johnson RA, Wichern DW (1998) Applied multivariate statistical analysis, Ed 4. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
- Kalenscher T, Lansink CS, Lankelma JV, Pennartz CM (2010) Reward-associated gamma oscillations in ventral striatum are regionally differentiated and modulate local firing activity. *J Neurophysiol* 103:1658–1672. [CrossRef Medline](#)
- Kay LM, Beshel J (2010) A beta oscillation network in the rat olfactory system during a 2-alternative choice odor discrimination task. *J Neurophysiol* 104:829–839. [CrossRef Medline](#)
- Kermadi I, Joseph JP (1995) Activity in the caudate nucleus of monkey during spatial sequencing. *J Neurophysiol* 74:911–933. [Medline](#)
- Kopell N, Ermentrout GB, Whittington MA, Traub RD (2000) Gamma rhythms and beta rhythms have different synchronization properties. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:1867–1872. [CrossRef Medline](#)
- Kühn AA, Kempf F, Brücke C, Gaynor Doyle L, Martinez-Torres I, Pogosyan A, Trottenberg T, Kupsch A, Schneider GH, Hariz MI, Vandenbergh W, Nuttin B, Brown P (2008) High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus suppresses oscillatory beta activity in patients with Parkinson's disease in parallel with improvement in motor performance. *J Neurosci* 28:6165–6173. [CrossRef Medline](#)
- Kuri-Morales A (2004) Automatic clustering with self-organizing maps and genetic algorithms: II. An improved approach. *WSEAS Trans Syst* 2:551–556.
- Lashgari R, Li X, Chen Y, Kremkow J, Bereshpolova Y, Swadlow HA, Alonso JM (2012) Response properties of local field potentials and neighboring single neurons in awake primary visual cortex. *J Neurosci* 32:11396–11413. [CrossRef Medline](#)
- Léhéricy S, Ducros M, Van de Moortele PF, Francois C, Thivard L, Poupon C, Swindale N, Ugurbil K, Kim DS (2004) Diffusion tensor fiber tracking shows distinct corticostriatal circuits in humans. *Ann Neurol* 55:522–529. [CrossRef Medline](#)
- Leventhal DK, Gage GJ, Schmidt R, Pettibone JR, Case AC, Berke JD (2012) Basal ganglia beta oscillations accompany cue utilization. *Neuron* 73:523–536. [CrossRef Medline](#)
- Levy R, Ashby P, Hutchison WD, Lang AE, Lozano AM, Dostrovsky JO (2002) Dependence of subthalamic nucleus oscillations on movement and dopamine in Parkinson's disease. *Brain* 125:1196–1209. [CrossRef Medline](#)
- Liu J, Newsome WT (2006) Local field potential in cortical area MT: stimulus tuning and behavioral correlations. *J Neurosci* 26:7779–7790. [CrossRef Medline](#)
- Macar F, Coull J, Vidal F (2006) The supplementary motor area in motor and perceptual time processing: fMRI studies. *Cogn Process* 7:89–94. [CrossRef Medline](#)
- Matell MS, Meck WH (2004) Cortico-striatal circuits and interval timing: coincidence detection of oscillatory processes. *Cogn Brain Res* 21:139–170. [CrossRef Medline](#)
- Meck WH (2006) Neuroanatomical localization of an internal clock: a functional link between mesolimbic, nigrostriatal, and mesocortical dopaminergic systems. *Brain Res* 1109:93–107. [CrossRef Medline](#)
- Meck WH, Penney TB, Pouthas V (2008) Cortico-striatal representation of time in animals and humans. *Curr Opin Neurobiol* 18:145–152. [CrossRef Medline](#)
- Mehring C, Rickert J, Vaadia E, Cardosa de Oliveira S, Aertsen A, Rotter S (2003) Inference of hand movements from local field potentials in monkey motor cortex. *Nat Neurosci* 6:1253–1254. [CrossRef Medline](#)
- Merchant H, Honing H (2014) Are non-human primates capable of rhythmic entrainment? Evidence for the gradual audiomotor evolution hypothesis. *Front Neurosci* 7:274. [Medline](#)
- Merchant H, Zainos A, Hernández A, Salinas E, Romo R (1997) Functional properties of primate putamen neurons during the categorization of tactile stimuli. *J Neurophysiol* 77:1132–1154. [Medline](#)
- Merchant H, Battaglia-Mayer A, Georgopoulos AP (2001) Effects of optic flow in motor cortex and area 7a. *J Neurophysiol* 86:1937–1954. [Medline](#)
- Merchant H, Luciana M, Hooper C, Majestic S, Tuite P (2008a) Interval timing and Parkinson's disease: heterogeneity in temporal performance. *Exp Brain Res* 184:233–248. [Medline](#)
- Merchant H, Zarco W, Bartolo R, Prado L (2008b) The context of temporal processing is represented in the multidimensional relationships between timing tasks. *PLoS One* 3:e3169. [CrossRef Medline](#)
- Merchant H, Zarco W, Prado L (2008c) Do we have a common mechanism for measuring time in the hundreds of millisecond range? Evidence from multiple-interval timing tasks. *J Neurophysiol* 99:939–949. [CrossRef Medline](#)
- Merchant H, Zarco W, Pérez O, Prado L, Bartolo R (2011) Measuring time with different neural chronometers during a synchronization-continuation task. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:19784–19789. [CrossRef Medline](#)
- Merchant H, de Lafuente V, Peña-Ortega F, Larriva-Sahd J (2012) Functional impact of interneuronal inhibition in the cerebral cortex of behaving animals. *Prog Neurobiol* 99:163–178. [CrossRef Medline](#)
- Merchant H, Harrington DL, Meck WH (2013a) Neural basis of the perception and estimation of time. *Annu Rev Neurosci* 36:313–336. [CrossRef Medline](#)
- Merchant H, Pérez O, Zarco W, Gámez J (2013b) Interval tuning in the primate medial premotor cortex as a general timing mechanism. *J Neurosci* 33:9082–9096. [CrossRef Medline](#)
- Middleton FA, Strick PL (2000) Basal ganglia output and cognition: evidence from anatomical, behavioral, and clinical studies. *Brain Cogn* 42:183–200. [CrossRef Medline](#)
- Mita A, Mushiaki H, Shima K, Matsuzaka Y, Tanji J (2009) Interval time coding by neurons in the presupplementary and supplementary motor areas. *Nat Neurosci* 12:502–507. [CrossRef Medline](#)
- Mitra PP, Bokil H (2008) Observed brain dynamics. New York: Oxford UP.
- Miyachi S, Hikosaka O, Miyashita K, Kárádi Z, Rand MK (1997) Differential roles of monkey striatum in learning of sequential hand movement. *Exp Brain Res* 115:1–5. [CrossRef Medline](#)
- Murthy VN, Fetz EE (1996) Synchronization of neurons during local field potential oscillations in sensorimotor cortex of awake monkeys. *J Neurophysiol* 76:3968–3982. [Medline](#)
- Mushiaki H, Strick PL (1995) Pallidal neuron activity during sequential arm movements. *J Neurophysiol* 74:2754–2758. [Medline](#)
- Nagarajan SS, Blake DT, Wright BA, Byl N, Merzenich MM (1998) Practice-related improvements in somatosensory interval discrimination are temporally specific but generalize across skin location, hemisphere, and modality. *J Neurosci* 18:1559–1570. [Medline](#)
- Paninski L, Fellows MR, Hatsopoulos NG, Donoghue JP (2004) Spatiotemporal tuning of motor cortical neurons for hand position and velocity. *J Neurophysiol* 91:515–532. [Medline](#)
- Parent A, Hazrati LN (1995) Functional anatomy of the basal ganglia: I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Rev* 20:91–127. [CrossRef Medline](#)
- Perez O, Kass RE, Merchant H (2013) Trial time warping to discriminate stimulus-related from movement-related neural activity. *J Neurosci Methods* 212:203–210. [CrossRef Medline](#)
- Rao SM, Harrington DL, Haaland KY, Bobholz JA, Cox RW, Binder JR (1997) Distributed neural systems underlying the timing of movements. *J Neurosci* 17:5528–5535. [Medline](#)
- Repp BH, Su YH (2013) Sensorimotor synchronization: a review of recent research (2006–2012). *Psychon Bull Rev* 20:403–452. [CrossRef Medline](#)

- Sanes JN, Donoghue JP (1993) Oscillations in local field potentials of the primate motor cortex during voluntary movement. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:4470–4474. [CrossRef Medline](#)
- Schalk G, Kubánek J, Miller KJ, Anderson NR, Leuthardt EC, Ojemann JG, Limbrick D, Moran D, Gerhardt LA, Wolpaw JR (2007) Decoding two-dimensional movement trajectories using electrocorticographic signals in humans. *J Neural Eng* 4:264–275. [CrossRef Medline](#)
- Schoffelen JM, Oostenveld R, Fries P (2005) Neuronal coherence as a mechanism of effective corticospinal interaction. *Science* 308:111–113. [CrossRef Medline](#)
- Tanji J, Shima K (1994) Role for supplementary motor area cells in planning several movements ahead. *Nature* 371:413–416. [CrossRef Medline](#)
- Thomson DJ (1982) Spectrum estimation and harmonic analysis. *Proc IEEE* 70:1055–1096. [CrossRef](#)
- Treisman M, Cook N, Naish PLN, MacCrone JK (1994) The internal clock: electroencephalographic evidence for oscillatory processes underlying time perception. *Q J Exp Psychol A* 47:241–289. [CrossRef Medline](#)
- Uhlhaas PJ, Pipa G, Lima B, Melloni L, Neuenschwander S, Nikolić D, Singer W, Nikolic D, Lin S (2009) Neural synchrony in cortical networks: history, concept and current status. *Front Integr Neurosci* 3:17. [CrossRef Medline](#)
- Waldert S, Preissl H, Demandt E, Braun C, Birbaumer N, Aertsen A, Mehring C (2008) Hand movement direction decoded from MEG and EEG. *J Neurosci* 28:1000–1008. [CrossRef Medline](#)
- Weinberger M, Hutchison WD, Dostrovsky JO (2009) Pathological subthalamic nucleus oscillations in PD: can they be the cause of bradykinesia and akinesia? *Exp Neurol* 219:58–61. [CrossRef Medline](#)
- Wiener M, Turkeltaub P, Coslett HB (2010) The image of time: a voxel-wise meta-analysis. *Neuroimage* 49:1728–1740. [CrossRef Medline](#)
- Wing AM, Kristofferson AB (1973) Response delays and the timing of discrete motor responses. *Percept Psychophys* 14:5–12. [CrossRef](#)
- Witham CL, Baker SN (2012) Coding of digit displacement by cell spiking and network oscillations in the monkey sensorimotor cortex. *J Neurophysiol* 108:3342–3352. [CrossRef Medline](#)
- Wright BA, Buonomano DV, Mahncke HW, Merzenich MM (1997) Learning and generalization of auditory temporal-interval discrimination in humans. *J Neurosci* 17:3956–3963. [Medline](#)
- Zarco W, Merchant H, Prado L, Mendez JC (2009) Subsecond timing in primates: comparison of interval production between human subjects and rhesus monkeys. *J Neurophysiol* 102:3191–3202. [CrossRef Medline](#)
- Zhuang J, Truccolo W, Vargas-Irwin C, Donoghue JP (2010) Decoding 3-D reach and grasp kinematics from high-frequency local field potentials in primate primary motor cortex. *IEEE Trans Biomed Eng* 57:1774–1784. [CrossRef Medline](#)