



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)**  
**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**Caracterización funcional de las neuronas de la corteza sensoriomotora que participan en la preparación y ejecución de movimientos voluntarios en la rata**  
**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**  
**MAESTRA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)**

**PRESENTA:**  
**BIÓLOGA PAOLA ANDREA RODRIGUEZ MORENO**

**DIRECTOR DE TESIS:**  
**Dr. ROJAS PILONI JOSÉ GERARDO**  
Departamento de Neurobiología del desarrollo y Neurofisiología,  
Instituto de Neurobiología, UNAM

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR**  
**DR. HUGO MERCHANT NANCY**  
Departamento de Neurobiología del desarrollo y Neurofisiología,  
Instituto de Neurobiología, UNAM

**DR. JORGE NOEL QUEVEDO DURÁN**  
Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias  
Centro de Investigación y Estudios Avanzados, IPN

Juriquilla, Qro. Qro. Junio 2020



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.

## ***Agradecimientos***

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), al Instituto de Neurobiología y al programa de Maestría en Ciencias (Neurobiología), los cuales abrieron sus puertas a estudiantes extranjeros.

A mi director el Dr. Gerardo Rojas Piloni por ser parte fundamental de este proceso, por su compañía, consejos, dedicación y paciencia. Agradezco su confianza y la oportunidad de aprender y crecer como profesional y persona bajo su tutoría.

Al Dr. Rafael Olivares Moreno, por todas sus enseñanzas y paciencia, acompañándome y demostrándome que tengo la capacidad y el conocimiento necesario para resolver los obstáculos que se me presentan. Gracias por la amistad, las risas y el apoyo durante este tiempo.

A la Dra. Mónica López Hidalgo por su asesoría y consejo en diversas situaciones, y por ser el ejemplo de la investigadora que algún día pretendo ser.

Al Lic. Cutberto Dorado por su invaluable colaboración durante todo el proyecto, aportando siempre su creatividad y buena energía. Gracias por su amistad.

A los miembros de mi comité tutor: Dr. Hugo Merchant y Dr. Jorge Quevedo por sus retroalimentaciones, consejos y comentarios los cuales fueron un gran aporte para la realización de este trabajo.

A la unidad de microscopía: Ing. Elsa Nydia Hernández, Ing. Lourdes Palma y Dra. Erika De los Ríos Arellano. Por su paciencia y colaboración.

A la unidad de Enseñanza y Posgrado: Dra. Nuri Aranda López, gracias por el acompañamiento durante este proceso.

A el Bioterio: MVZ. José Martín García Servín y Alejandra Castillo León, por su colaboración y ayuda.

Al departamento de videoconferencia y cómputo: Psicóloga Ma. De Lourdes Lara Ayala e Ing. Ramón Martínez Olvera

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo para cursar la maestría en ciencias en el Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Número de becario (CV 934973).

El presente proyecto fue realizado en el laboratorio de integración sensoriomotora A-13 de Instituto de Neurobiología y fue financiado por el proyecto A1-S-8686 de Ciencia básica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y el proyecto del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT-DGAPA IN201518

## ***Dedicatorias***

A mis padres Nubia Moreno y Edilson Rodríguez, a quienes debo mucho, por sus enseñanzas, apoyo y amor incondicional. Aún en la distancia siempre serán mi ejemplo y una de mis razones para ser quien hoy soy. Espero siempre ser un motivo de orgullo, los amo y siempre lo haré, muchas gracias por ser mis padres.

A mi hermano David Rodríguez por ser un apoyo y un compañero de vida.

A mi familia por su amor y compañía. En especial a mis tías Sandra y Cristina y a mi tío Víctor por estar acompañándonos y demostrándome que en ellos aún puedo sentir el amor de mi papá, mi más sincero amor y agradecimiento.

A mis ángeles y grandes personas de amor Laura, Sonia, Loren y aunque no esté presente Karen, las amo y agradezco profundamente su amor, compañía y apoyo.

A ti Francisco por ser mi compañero y mi apoyo. Gracias por llenar mi vida de bellos momentos y darme un motivo más para sonreír

A mis mejores amigas quienes son un soporte y fuente de alegrías Laura Janneth, Laura Camila, Sofia e Indira, ¡hasta los 97! Siempre juntas. Las quiero.

Gracias al laboratorio A13 por convertirse en mi familia. En especial gracias por el apoyo y consejos recibidos por Laura, Verónica, Moisés y Carolina, que me han dado amor incondicional, y que me han abierto las puertas de sus casas. Y al Doctor Gerardo muchas gracias por su apoyo y por ser una guía en nuestro camino, un orgullo trabajar con usted.

*“El cerebro es una entidad muy diferente de las del resto del universo. Es una forma diferente de expresar todo. La actividad cerebral es una metáfora para todo lo demás. Somos básicamente máquinas de soñar que construyen modelos virtuales del mundo real”*

*Rodolfo Llinás*

*“Todo ser humano, si se lo propone, puede ser escultor de su propio cerebro”*

*Santiago Ramon y Cajal*

## **Resumen**

La corteza motora participa en la coordinación de la actividad de los sistemas subcorticales relacionados con el control muscular, desempeñando un papel fundamental en la coordinación de movimientos y posturas (Canedo, 1997; Isomura et al., 2009; Scott, 2004). En particular, las neuronas de la capa 5 se conectan con varias estructuras subcorticales mediante el sistema piramidal que contribuye en varias fases del movimiento, como la planificación, ejecución y terminación de los movimientos (Isomura et al., 2009; Li et al., 2015; Svoboda & Li, 2018a).

Las neuronas del tracto piramidal se organizan en subgrupos parcialmente segregados de acuerdo con su sitio de proyección (Ecónomo et al., 2018b; Olivares-Moreno et al., 2019; Rojas-Piloni et al., 2017); sin embargo, aún se desconoce la contribución de cada subgrupo en el procesamiento de la información durante los movimientos voluntarios. En el presente trabajo se desarrolló una técnica que nos permitió identificar y estudiar la actividad neuronal antes, durante y después de la ejecución de un movimiento voluntario.

Se usaron ratas Wistar (250-300 g al momento del registro) para los experimentos. Los animales fueron entrenados desde el día 24 postnatal hasta los 2 meses y medio, para ejecutar un movimiento de palanca en respuesta a un estímulo de luz en condiciones de cabeza fija. Usando este protocolo, registramos 71 neuronas putativas de las capas V y VI de la corteza sensoriomotora (registrando a profundidades de 500-1900  $\mu\text{m}$ ) durante diferentes fases de movimiento que se clasificaron como preparación, iniciación y ejecución del movimiento.

Se encontró que las diferentes subclases de neuronas putativas de las capas V y VI de la corteza motora, exhiben actividad relacionada con las distintas fases del movimiento, por lo que concluimos que están segregadas funcionalmente.

## ***Abstract***

Motor cortex participates in the coordination of the activity of subcortical systems related to muscle control, playing a fundamental role in the coordination of movements and posture (Canedo, 1997; Isomura et al., 2009; Scott, 2004). In particular, neurons in layer 5 connect with several subcortical structures by means the pyramidal system contributing to various phases of the movement, such as the planning, execution and termination of movements (Isomura et al., 2009; Li et al., 2015; Svoboda & Li, 2018a).

Pyramidal tract neurons are organized in partially segregated subgroups according to their projection site (Ecónomo et al., 2018b; Olivares-Moreno et al., 2019; Rojas-Piloni et al., 2017); however, it is still unknown how each subgroup participates in the information processing during voluntary movements. Here, we developed a technique to allow the identification and study of the neuronal activity before, during and after the execution of a voluntary movement. Wistar rats (250-300 g at the time of registration) were used for the experiments. The animals were trained starting at postnatal day 24 and until 2 and a half months, to execute a lever movement in response to a light stimulus in head-fixed conditions. Using this protocol, we recorded 71 putative neurons from layers V and VI of the sensorimotor cortex (recording depths 500-1900  $\mu\text{m}$ ) during different phases of movement.

In this way, different subclasses of putative neurons of layers V and VI of the motor cortex were found, which exhibit activity related to different phases of a movement and which were classified as preparation, initiation and execution. We conclude that the neurons of layers V and VI related to motor control are functionally segregated.

# Índice

<b>Agradecimientos</b> .....	<b>1</b>
<b>Dedicatorias</b> .....	<b>3</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>5</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>6</b>
<b>Índice</b> .....	<b>7</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>9</b>
<b>Antecedentes</b> .....	<b>10</b>
<b>Justificación</b> .....	<b>17</b>
<b>Hipótesis</b> .....	<b>18</b>
<b>Objetivos</b> .....	<b>18</b>
Objetivo general .....	18
Objetivos específicos.....	18
<b>Metodología</b> .....	<b>19</b>
Animales.....	19
Conducta .....	19
Cirugías.....	21
Implantación de la placa de semi-restricción .....	21
Ventana crónica. ....	21
Registros electrofisiológicos .....	22
Histología .....	22
Análisis de resultados.....	22
Identificación de potenciales de acción.....	22
Obtención de densidad de espigas .....	22
Análisis de regresión lineal múltiple .....	23
Análisis de clusterización.....	27
<b>Resultados</b> .....	<b>27</b>
Conducta .....	27
Electrofisiología.....	31
Análisis de la actividad con respecto a un evento específico. ....	31
Análisis de regresión lineal múltiple.....	32

<b>Discusión.....</b>	<b>48</b>
<b>Conclusiones .....</b>	<b>55</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>56</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>62</b>

## **Introducción**

El sistema nervioso central participa en la integración y en el procesamiento de información sensorial de diversos tipos procedente del entorno, con lo cual es posible generar respuestas que incluyen componentes motores. Así, la integración sensoriomotora, que comprende la interacción funcional entre los sistemas sensoriales y motores, lo que permite a los organismos responder a los desafíos impuestos por el ambiente (Borde et al., 2004).

La corteza motora cumple un papel fundamental en la coordinación de los movimientos y la postura, ya que esta área cortical puede modular selectivamente el flujo de la información sensorial, así como coordinar la actividad de los sistemas subcorticales relacionados con el control muscular (Canedo, 1997). Se ha evidenciado que, aunque no exista la corteza motora, los individuos pueden llevar a cabo movimientos complejos de las extremidades anteriores y, por ende, se ha propuesto que el papel que desempeña la corteza se inclina hacia la modulación y coordinación de las estructuras subcorticales relacionadas con el control motor, del mismo modo se involucra al inicio de los movimientos voluntarios (Canedo, 1997). Las principales neuronas de salida de la corteza motora hacia estructuras subcorticales conforman el sistema piramidal y se localizan en las regiones profundas de la capa V. Existen diferentes subclases de neuronas del sistema piramidal, las cuales presentan diferencias genéticas, morfológicas, hodológicas y funcionales. Este hecho indica una subdivisión en la funcionalidad (Baker et al., 2018) y, por lo tanto, se ha propuesto que existe una jerarquía en la participación de tales neuronas en la planeación y ejecución de los movimientos voluntarios. En este sentido, las neuronas de la corteza motora, exhiben actividad relacionada con distintas fases de un movimiento, como lo son la preparación, iniciación, ejecución y terminación del movimiento voluntario (Isomura et al., 2009).

El control motor depende de la retroalimentación sensorial, es decir, requieren un aporte de información sensorial aferente (Borde et al., 2004). La corteza motora, además de participar en la codificación de diversos aspectos del movimiento, anticipa el movimiento. La interrupción de esta actividad preparatoria puede modificar la ejecución adecuada del movimiento. Por ende, se ha sugerido que esta actividad preparatoria es una referencia de la planificación motora (Chen et al., 2017).

Dado que existe una variabilidad funcional de la actividad neuronal que implica la participación de las neuronas de la corteza sensoriomotora, en este trabajo se realizó un análisis detallado de las correlaciones funcionales que se establecen entre la actividad de las neuronas de la corteza sensoriomotora en ratas entrenadas para palanquear durante la presencia de un estímulo visual. De esta manera, se establecieron relaciones funcionales entre la actividad neuronal con la planeación y ejecución de movimientos en un modelo murino.

## ***Antecedentes***

La corteza somatosensorial primaria y la corteza motora primaria forman lo que se conoce como la corteza sensoriomotora, la cual ha sido fundamental para mejorar la capacidad de los mamíferos para aprender y ejecutar nuevos movimientos y de forma precisa (Nudo & Frost, 2007). La corteza sensoriomotora representa la información sensorial y motora de forma espacialmente organizada, participando de forma activa durante la planificación y ejecución de movimientos voluntarios, codificando variables relacionadas con el movimiento como la dirección, la velocidad, la fuerza entre otras características del movimiento (Chen et al., 2017).

El sistema motor puede realizar tres tipos de movimientos dentro de los que se encuentran los movimientos voluntarios definidos como aquellos movimientos dirigidos por una motivación y que cumplen un propósito, su ejecución mejora con la práctica y pueden darse en respuesta a un estímulo externo (Soriano Mas et al., 2007). Las respuestas reflejas, son aquellas que se caracterizan por ser respuestas rápidas, involuntarias y estereotipadas que son producidas por estímulos no condicionados. Por último, los patrones motores rítmicos, los cuales se caracterizan por ser una combinación entre actos voluntarios y reflejos, ya que su inicio y su final son voluntarios; sin embargo, después de iniciados, el movimiento se ejecuta de una manera más o menos estereotipada, ejemplo de estos es el caminar (Soriano Mas et al., 2007). De acuerdo con la teoría jerárquica del control motor, para ejecutar un movimiento es necesaria la interacción de múltiples estructuras del sistema nervioso central, que se encuentran organizadas jerárquicamente, logrando que los comandos motores vayan desde un nivel superior a un nivel inferior, teniendo en cuenta que cada nivel tiene la posibilidad de actuar sobre otros (Rudomin & Schmidt, 1999).

Las motoneuronas del asta anterior de la médula espinal conforman el nivel inferior, siendo esta la zona que coordina e integra la actividad muscular y el mantenimiento de la postura, además de desarrollar automatismos simples de la marcha y movimientos reflejos. El tronco encefálico, conformado por la formación reticular, núcleos vestibulares, núcleo rojo y tubérculos cuadrigéminos superiores, forman el nivel intermedio, encargándose de controlar y ajustar el tono muscular, regular la postura y mantener el equilibrio (Abernethy et al., 2013). Por último, al nivel más alto de la jerarquía se encuentran la corteza motora (corteza motora primaria y corteza motora secundaria), la cual interviene en el control de los actos motores, de establecer la finalidad de los movimientos, la organización de los comandos motores y su ejecución (Scott, 2016). Por otro lado, los sistemas moduladores subcorticales como ganglios basales y cerebelo, intervienen en el desarrollo de los movimientos y en la regulación del equilibrio (Abernethy et al., 2013).

Las cortezas sensoriales y motoras primarias están constituidas por neuronas con características morfológicas variadas y las cuales se encuentran distribuidas dentro de 6 capas. La capa 1 está compuesta principalmente por las dendritas de las neuronas piramidales y las neuronas fusiformes de las capas más profundas (Amaral & Peter, 2013). Las capas 2/3 están conformadas por neuronas excitatorias de tipo esférico o piramidales con proyecciones a las neuronas corticoestriatales y corticoespinales de la capa 5 (en corteza motora) (Amaral & Peter, 2013; Brecht et al., 2004; Donoghue & Wise, 1982; Papale & Hooks, 2018; Weiler et al., 2008), e

interneuronas gabaérgicas de respuesta rápida, que disparan potenciales de acción de corta duración y de alta frecuencia (Cauli et al., 1997; Lefort et al., 2009; Naka et al., 2016). La capa 4 presente en la corteza sensorial y no muy clara (o ausente) en la corteza motora (Papale & Hooks, 2018), se encuentra conformada por neuronas esféricas granulares, las cuales son la entrada sensorial del tálamo (Amaral & Peter, 2013). Asimismo, esta capa contiene neuronas piramidales estrelladas espinosas las cuales proyectan colaterales a las células piramidales corticoespinales (Cho, et al., 2004), además de proyecciones intracortical de la lámina 4 a las láminas 2/3 (Papale & Hooks, 2018).

La capa 5 de la corteza sensoriomotora se subdivide en la capa 5a y la 5b, las cuales contienen neuronas piramidales excitatorias, aunque cabe resaltar que es posible encontrar neuronas piramidales a lo largo de todas las capas de la corteza, excluyendo la capa 1 (Ramaswamy & Markram, 2015). En mamíferos han sido ampliamente estudiadas las neuronas piramidales de penacho delgado y las neuronas piramidales de penacho grueso las cuales se asocian con la integración de diversas entradas de información a través de las capas mesocorticales, además de formar las principales salidas, canalizando el flujo de información a las diferentes estructuras subcorticales envueltas en el control de los movimientos (Ramaswamy & Markram, 2015). Las neuronas piramidales de la corteza motora proyectan a diferentes blancos, las que se encuentran ubicadas en las capas 5a, conocidas como de empenachadas delgadas proyectan al estriado ipsilateral, y a través del cuerpo caloso a las cortezas contralaterales (Hattox & Nelson, 2007; Kasper et al., 1994; Ramaswamy & Markram, 2015); como características electrofisiológicas estas células presentan disparos regulares, no presentan disparos en ráfagas, un alto grado de adaptación en la frecuencia de espigas (aumentando su intervalo inter - espigas posterior a la inyección de una corriente despolarizante) y umbrales de disparos más negativos. Por otro lado, las células presentes en la capa 5b conocidas como empenachadas gruesas, presentan disparos en ráfagas, y una adaptación corta, además de proyectar principalmente a el núcleo posterior talámico, los colículos superiores, el núcleo pontino, núcleo rojo, la médula espinal, el estriado y al puente (Baker et al., 2018; Cho, Segawa, Mizuno, et al., 2004; Hattox & Nelson, 2007; Kasper et al., 1994; Olivares-Moreno et al., 2017; Ramaswamy & Markram, 2015; Rojas-Piloni et al., 2017) (Fig. 1a).

Las neuronas de la capa 6 son heterogéneas de tipo polifórmico o multiforme (Amaral & Peter, 2013), pertenecientes a las neuronas de las capas profundas, y son fuente importante de la salida de la corteza motora. En general estas neuronas pueden ser divididas en dos categorías por sus proyecciones axonales, la primera son las intratelencefálicas y las extratelencefálicas. Un subtipo de neuronas de la capa 6 son las neuronas cortico talámicas, proyectando hacia el tálamo sensorial primario, núcleos talámicos de orden superior o ambos; un segundo subtipo, aunque aún no muy claro son las neuronas que proyectan a cortezas contralaterales (Baker et al., 2018) (Fig. 1a).

La corteza sensoriomotora está compuesta por células con diferente expresión genética, electrofisiología, localización y conectividad que presentan subgrupos funcionales segregados (Ecónomo et al., 2018a; Narayanan et al., 2017). Ejemplo de esto es la existencia de clasificaciones a nivel funcional de neuronas en la corteza de barriles, las cuales se relacionan con sus características morfológicas dentro de las que encontramos: densidad dendrítica, ubicación de dendritas apicales, profundidad del soma, entre otras, pero se ha observado que

los subgrupos obtenidos por medio de estas clasificaciones no concuerdan exactamente con la distribución de las diferentes capas de la corteza. Sin embargo, es posible afirmar que la mayor presencia de variabilidad se encuentra en las profundidades correspondientes a la capa 5 (Oberlaender et al., 2011). Esto concuerda con otros estudios donde se muestra la presencia de subgrupos de neuronas segregadas presentes en la capa 5, las cuales tienen blancos de proyección diferentes que se relacionan con características electrofisiológicas, hidrológicas y morfológicas específicas (Olivares-Moreno et al., 2019; Rojas-Piloni et al., 2017). La diferencia funcional de las neuronas de las células neocorticales no solo se reduce a las neuronas piramidales, también neuronas no piramidales muestran un repertorio amplio de respuestas electrofisiológicas que se encuentran relacionadas con factores genéticos y moleculares de las mismas (Cauli et al., 1997).

Las neuronas piramidales de las capas profundas 5 y 6, que incluyen el tracto piramidal ubicado en la capa 5b, integran la información de neuronas excitatorias e inhibitorias intracorticales (capas 2 a 6), corti-corticales y subcorticales, y son la salida de información a los diferentes centros premotores del tronco encefálico, tálamo y de la médula espinal, influyendo así en el comportamiento motor de los animales (Baker et al., 2018; Ecónomo et al., 2018a; Olivares-Moreno et al., 2017; Rojas-Piloni et al., 2017) (Fig. 1b). Se ha planteado que existen interconexiones locales excitatorias entre las neuronas de las capas profundas, las cuales pueden formar subredes funcionalmente distintas con diferentes blancos de proyección (Baker et al., 2018) (Fig. 1a).

Se sabe que el desempeño de los movimientos depende de las interacciones de las salidas de la corteza sensoriomotora a diferentes estructuras subcorticales, siendo una de las principales salidas el tracto piramidal, el cual proyecta a la médula espinal. Este sistema es multifuncional que involucra la integración sensoriomotora, ya que modula las interneuronas premotoras de la médula espinal pero también modula la información sensorial entrante, por lo cual toma un papel relevante en el control motor voluntario (Fig. 1c) (Lemon, 2008; Olivares-Moreno et al., 2019).

Las habilidades motoras varían en la precisión y exactitud requeridas para su ejecución, esto debido a la complejidad de la secuencia y a la musculatura involucrada en la ejecución del movimiento. Estas habilidades pueden involucrar distintos mecanismos neuronales para el aprendizaje y control, afectando el tiempo de entrenamiento requerido para alcanzar un desempeño óptimo (Papale & Hooks, 2018). El aprendizaje de habilidades motoras requiere de entrenamientos repetitivos, y una vez dominado puede ser recordado por largos periodos (Luft & Buitrago, 2005). Hay evidencia de la existencia de distintos mecanismos neuronales que se modifican dentro y entre sesiones (reclutamiento de áreas específicas, síntesis de proteínas, entre otros). Por ende, hay distintos factores que afectan el aprendizaje dentro de las sesiones de entrenamiento entre los que se encuentran la atención, la fatiga y la motivación del animal, estando éstos relacionados con causas fisiológicas y atencionales. Por otro lado, los factores que están afectando el aprendizaje entre las sesiones están involucrados con la práctica, la consolidación y las limitaciones fisiológicas en el rendimiento (Luft & Buitrago, 2005; Papale & Hooks, 2018).

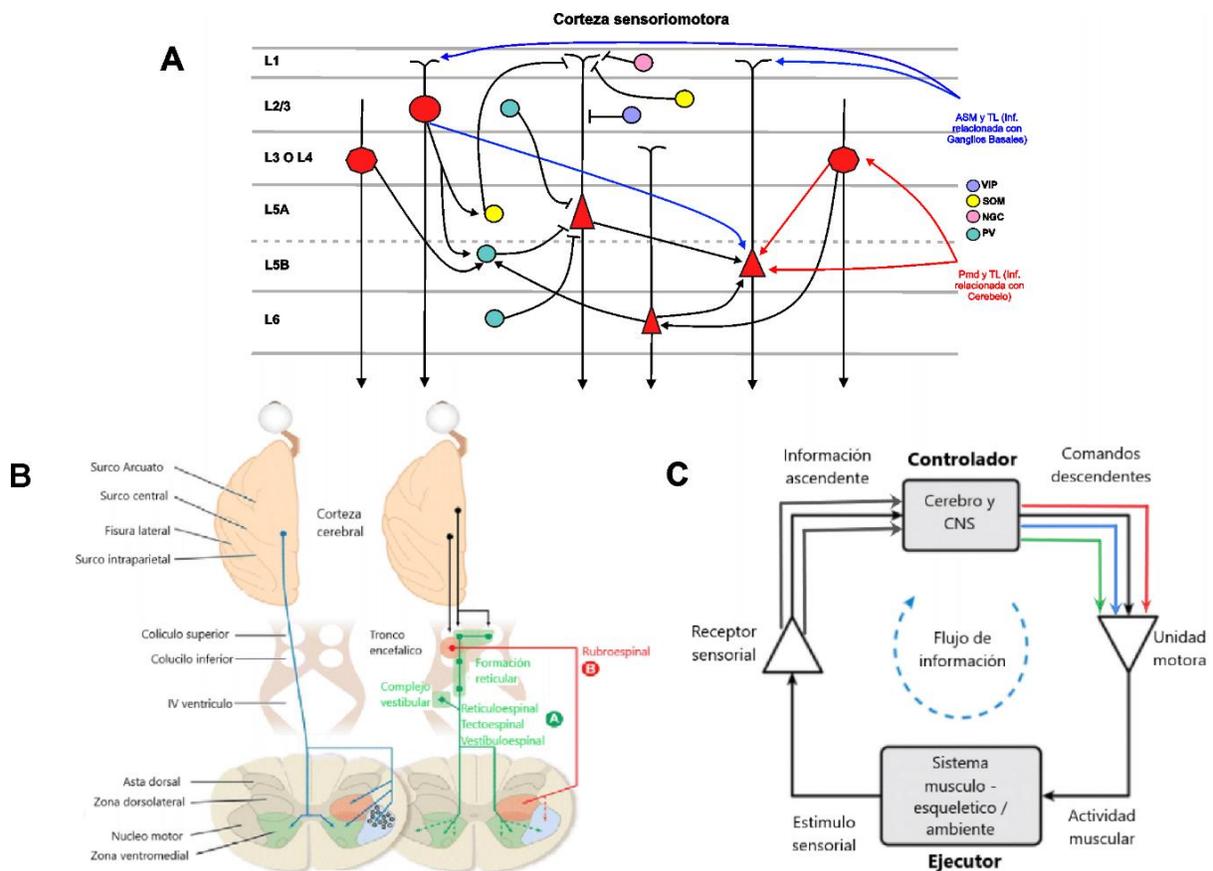
El aprendizaje sensoriomotor se basa en el establecimiento de circuitos que permiten la reproducibilidad de patrones y comportamientos estereotipados. Este aprendizaje puede ser definido ampliamente como la mejora en la capacidad de relacionarse con el medio ambiente, a partir de interpretar las señales sensoriales y responder a través del sistema motor (Makino et al., 2016). Dentro del aprendizaje sensoriomotor se ven involucradas estructuras como la corteza premotora dorsal, la corteza prefrontal, ganglios basales, tálamo, hipocampo, amígdala, cortezas primarias motoras y sensoriales, entre otras (Canavan et al., 1989; Makino et al., 2016; Petrides, 1982).

El aprendizaje sensoriomotor se divide en 3 procesos: el primero es el aprendizaje perceptivo, en el cual ocurre la extracción selectiva y posterior procesamiento eficiente de la información sensorial, lo que implica establecer representaciones óptimas de los estímulos que son importantes para la tarea. Para que se lleve a cabo este aprendizaje, es necesaria la selección y discriminación de estímulos a partir de la neuro-modulación de los circuitos de entrada de información sensorial (Laubach et al., 2000; Makino et al., 2016; Scott, 2004). El segundo es el aprendizaje de asociación, el cual implica la vinculación de uno más estímulos particulares con una acción o respuesta específica. Por último, está el aprendizaje de habilidades motoras, el cual puede ser definido como la correcta ejecución estereotipada de un comportamiento motriz adecuado y consistente. Este puede ser medido con la precisión, tiempo de reacción y velocidad de ejecución que con la práctica se va haciendo óptima; tiene un patrón temporal característico donde presenta una mejora inicial rápida, y una segunda fase más lenta donde se realiza el refinamiento (Laubach et al., 2000; Makino et al., 2016). El aprendizaje asociativo y el aprendizaje de habilidades motoras se dan a través de mecanismos basados en la exploración conductual, la retroalimentación (prueba y error) y optimización de la ruta (mecanismo de plasticidad hebbiana) que permite generar un circuito estable que puede producir un comportamiento motor a un estímulo específico (Makino et al., 2016; Papale & Hooks, 2018).

Se ha evaluado el papel que juegan diferentes estructuras en la toma de decisión y selección de una respuesta adecuada. La elección de un comportamiento adecuado se lleva a cabo a partir de múltiples opciones, decisión que se ve influenciada por el valor o importancia de los resultados esperados para un comportamiento determinado. Entre las estructuras que se encuentran participando en la toma de decisión se encuentran el cuerpo estriado, la corteza prefrontal dorsolateral, el campo ocular suplementario y la corteza parietal. Cabe resaltar que la valoración de múltiples comportamientos puede procesarse en paralelo. La elección de una acción debe tener un sistema neuronal específico que luego propagara la elección a otros sistemas, los cuales ejecutarán y evaluarán la acción elegida (Sul et al., 2011). Un estudio realizado por Sul y colaboradores (2011) demuestra que la corteza agranular medial de la corteza motora secundaria está involucrada en la valoración y selección de los movimientos voluntarios de los animales.

La corteza motora controla los movimientos finos enviando diferentes patrones de actividad a diversos centros motores subcorticales. Uno de los modelos que explica sobre como la corteza sensoriomotora participa en el control y ejecución de movimientos voluntarios se le denomina sistema dinámico (Sauerbrei et al., 2020). En el sistema dinámico, la actividad neuronal poblacional del sistema motor muestra una combinación de señales, las cuales se reparten entre las salidas para modular la médula espinal y músculos (generación de patrones necesarios para

el movimiento), y los procesos internos de la corteza que ayudarán a modular y coordinar estas salidas (Shenoy et al., 2013). El sistema dinámico se compone de tres subsistemas: el primero es la actividad preparatoria, encargada de preparar la actividad neuronal de manera apropiada. Un segundo subsistema se encarga de utilizar esta actividad inicial óptima para generar movimiento, a partir de la contracción muscular. Un tercer subsistema utiliza la retroalimentación como sistema de modulación y control del movimiento ejecutado (Shenoy et al., 2013). Por ende, el sistema dinámico depende de un estado local cortical que da forma a los patrones de actividad durante la ejecución de un movimiento, pero a su vez este estado dinámico cortical está influenciado por entradas con temporalidad específica de información externas a la corteza motora, que a su vez puede tener un rol generador de patrones de actividad (Fig. 1) (Sauerbrei et al., 2020).



**Figura 1. Conectividad de la corteza sensoriomotora.** Dentro de la corteza existen circuitos (a) de carácter inhibitorio y excitatorio. El circuito inhibitorio que influye en los comandos de salida está conformado por diversas células ubicadas en diferentes capas de la corteza dentro de las que se encuentran: las células neuroglificiformes (NGC, rosadas), las células de somatostatina (SOM/Martinotti, amarillo), las células de péptido intestinal vasoactivo (VIP, morado), células de parvulina o de cesta (PV, azul). Dentro del circuito, las sinapsis excitatorias conectan las diferentes capas de la corteza, algunas de las cuales reciben entradas de información de otras estructuras como el tálamo (TL), la corteza premotora dorsal (PMd, línea roja), y el área motora suplementaria (ASM, línea color azul). (b) de las fibras corticoespinales (línea azul) y proyecciones a núcleos del tronco encefálico (líneas negras), que a su vez proyectan a la médula espinal a través de vías ventromediales (A, líneas color verde; tractos reticuloespinal, tectoespinal y vestibuloespinal) y dorsolaterales (B, línea color rojo; tracto rubroespinal). (c) Diagrama de

proyecciones que controlan y permiten la ejecución de los movimientos, inervando motoneuronas e interneuronas presentes en la medula espinal. Así mismo la retroalimentación sensorial modula e influye en la actividad neuronal en la corteza motora que dará origen a los patrones de actividad, información que activa diferentes receptores sensoriales, entrando como información ascendente por diferentes vías (Tomado y modificado de: (Lemon, 2008)).

La corteza motora participa en la integración, almacenamiento y selección de información sensorial, involucrándose así en la percepción de los estímulos (Fassihi et al., 2017). Las entradas de información externas a la corteza motora, pueden ser entendidas como información propioceptiva (estados musculares, de articulaciones, posición del cuerpo y las extremidades, entre otros), estímulos sensoriales ambientales o información proveniente de regiones subcorticales y corticales, la cual permite la corrección de error o perturbación durante el movimiento (Churchland & Shenoy, 2007; Sauerbrei et al., 2020; Scott, 2016). La retroalimentación sensorial, ya sea propioceptiva o información periférica ambiental modula la actividad de la corteza motora antes y durante la ejecución de los movimientos (Rudomin & Schmidt, 1999; Seki et al., 2003). Por lo cual es posible afirmar que el sistema motor usa las señales de retroalimentación como corrección y compensación de los comandos motores, al evaluar el rendimiento de la ejecución de los movimientos (Heindorf et al., 2018; Karadimas et al., 2019; Moreno-López et al., 2016; Scott, 2004).

Aún no es claro si la actividad preparatoria se origina en un lugar específico y posteriormente se extiende a otras áreas, o si su aparición es simultánea en múltiples áreas (Chen et al., 2017). En los primeros estudios se propuso que la actividad preparatoria era una forma de actividad de movimiento por debajo del umbral, hipótesis que fue descartada posteriormente (Churchland et al., 2010). En el sistema dinámico se estableció que la actividad preparatoria desplaza la actividad de la población de la corteza motora a una condición inicial óptima, desde la cual se pueden generar la actividad neuronal relacionada con la ejecución, la cual dará origen a movimientos rápidos y precisos (Churchland et al., 2010; Ecónomo et al., 2018a; Shenoy et al., 2013). Se ha demostrado que dentro de la actividad preparatoria participan estructuras como la corteza medial lateral, la corteza prefrontal dorsal, tálamo, cerebelo, estriado, ganglios basales, colículo superior y corteza parietal (Chen et al., 2017; Svoboda & Li, 2018a). Estas estructuras pueden mostrar actividad preparatoria al mismo tiempo, creando módulos, los cuales corresponden a circuitos que pueden mantener la actividad preparatoria por medio de la retroalimentación. Así, cada módulo individualmente retiene la actividad preparatoria cuando otros módulos son perturbados y ayudan a los módulos perturbados a recuperarse, creando un sistema redundante (Svoboda & Li, 2018a).

La interrupción de la actividad preparatoria tiene como efecto la errónea ejecución del movimiento o el retraso del inicio del mismo. Esta actividad puede entenderse como un correlato neuronal temprano de la elección del comportamiento, después de la evaluación de la información sensorial recibida y las recompensas obtenidas al ejecutar una acción anteriormente (Chen et al., 2017; Churchland et al., 2006). Esta actividad previa puede estar involucrada en la integración de información motora intracortical y cortico-subcortical, permitiendo la coordinación de las fases motoras secuenciales (preparación, inicio, ejecución y finalización del movimiento) (Isomura et al., 2009). La actividad preparatoria ha mostrado influencia por características específicas de los movimientos como la velocidad, tiempo de reacción, variabilidad del movimiento, distancia y dirección (Churchland et al., 2006, 2010; Churchland & Shenoy, 2007). En la actualidad, se ha demostrado que la actividad preparatoria

no solo representa factores específicos, sino que puede estar desempeñando un papel mecanicista, al ser el estado inicial de un sistema dinámico, ajustándose a características del movimiento de manera indirecta, a través de la relación con la actividad peri-movimiento (Churchland et al., 2010; Shenoy et al., 2013).

## ***Justificación***

Evidencias experimentales de nuestro grupo (Olivares-Moreno et al., 2019; Rojas-Piloni et al., 2017; Santana-Chávez et al., 2020) y otros (Baker et al., 2018; Ecónomo et al., 2018a; Sauerbrei et al., 2020), plantean la existencia de subpoblaciones de neuronas dentro de la corteza sensoriomotora que presentan propiedades morfológicas y funcionales diferenciales. En particular, las neuronas de la capa 5b que forman parte del sistema piramidal forman subgrupos que proyectan de manera segregada a distintas estructuras diencefálicas, mesencefálicas, bulbares y a la médula espinal. Ello ha permitido sugerir que la corteza sensoriomotora tiene la capacidad de procesar información de distintos tipos y generar canales de salida individuales hacia distintas estructuras subcorticales (Rojas-Piloni et al., 2017).

El presente estudio pretende analizar, por medio de la electrofisiología en animales que desarrollan un movimiento voluntario, el papel que cumplen las neuronas de la corteza sensoriomotora de las capas profundas. Específicamente, en el presente proyecto se plantean las siguientes preguntas: ¿existen subpoblaciones funcionales distintas dentro de las neuronas de las capas profundas de la corteza sensoriomotora? Si es así, ¿qué papel ejercen dentro de las tareas de movimientos voluntarios en la rata?, por último, se pretende analizar si existe una jerarquía dentro de los comandos sensoriomotores. Obtener una respuesta a las anteriores preguntas permitirá una mayor comprensión del comportamiento de este sistema, incluso permitirá determinar si existe una jerarquía en los comandos sensoriomotores y, de haberla, qué posición en ella se ubican las neuronas que forman los diferentes tractos a núcleos subcorticales.

## ***Hipótesis***

Las neuronas de las capas profundas de corteza sensoriomotora se dividen en subgrupos funcionales que participan en la preparación y la ejecución de movimientos volitivos.

## ***Objetivos***

### ***Objetivo general***

Determinar el papel de las neuronas de las capas profundas de la corteza sensoriomotora durante las fases preparatorias y ejecución de un movimiento de palanqueo.

### ***Objetivos específicos***

- Analizar la actividad eléctrica unitaria de neuronas de la corteza sensoriomotora durante la planeación y ejecución de movimientos de palanqueo en ratas entrenadas en un paradigma de condicionamiento operante.
- Establecer si existe una jerarquía temporal de las neuronas de la corteza sensoriomotora asociadas al movimiento.

## **Metodología**

### **Animales**

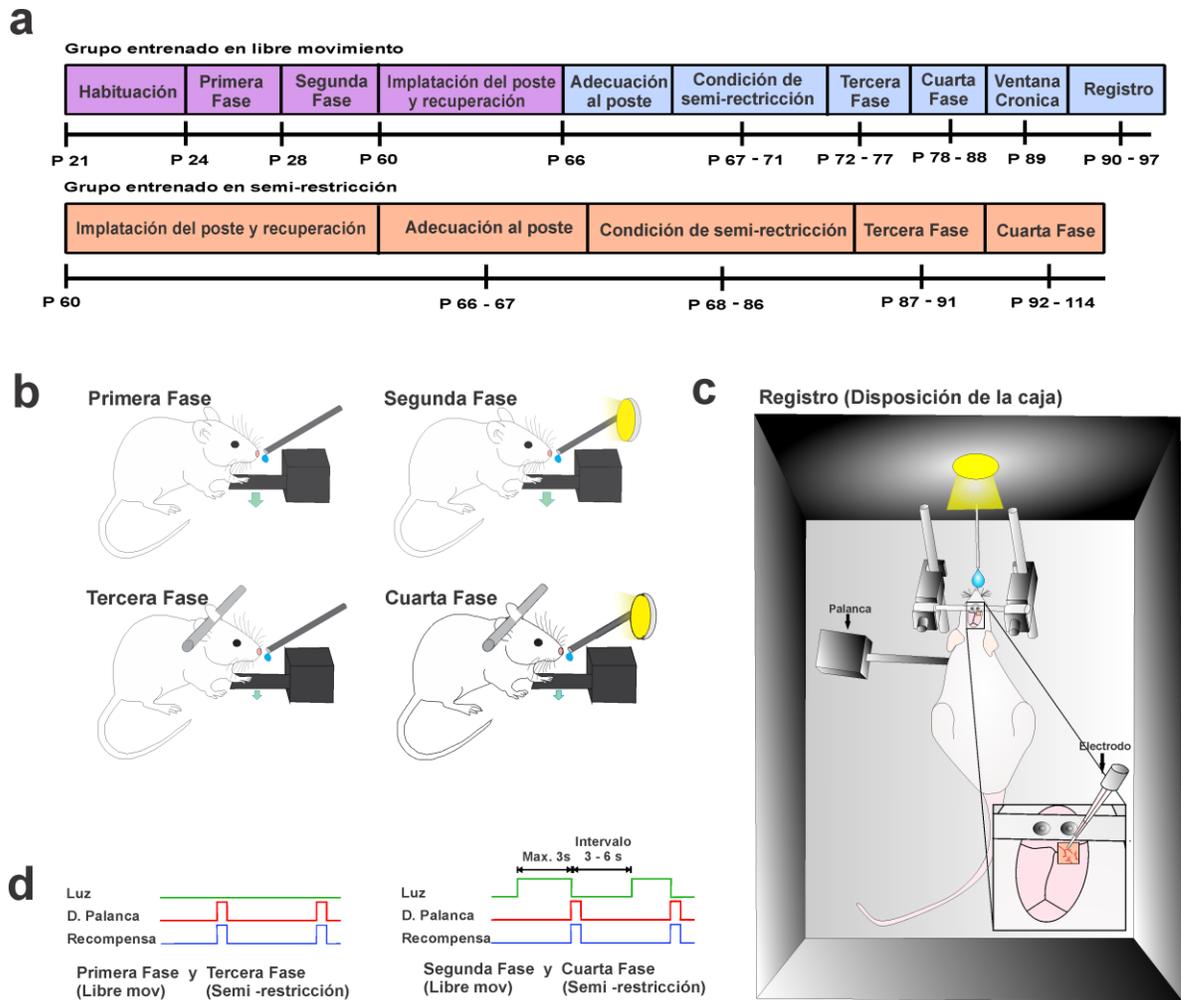
Se utilizaron ratas de la cepa Wistar, con una edad de 21 días, los cuales fueron ubicados en cajas de policarbonato, en condiciones de temperatura controladas ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y condiciones de luz – oscuridad de 12 horas, con alimento *ad libitum*. La restricción de agua tiene su inicio 24 horas antes del inicio de la primera sesión y se mantiene durante los días que se realiza el entrenamiento conductual, para este trabajo se usó una restricción aguda, en la cual los animales recibieron agua durante la sesión y una hora *ad libitum* posterior.

Antes de iniciar con el entrenamiento, existe un periodo de adaptación de entre 3 a 4 días en el cual los animales son expuestos a la manipulación por parte del experimentador. La habituación se llevó a cabo mediante el contacto con los animales en sesiones de 15 a 20 minutos diarios, en donde los animales fueron pesados y se permitió el contacto de los animales con las manos del investigador y posteriormente se procedió a moverlos dentro de la caja donde habitan.

### **Conducta**

El entrenamiento de los animales fue realizado en un cuarto oscuro dentro de cajas de policarbonato de color negro. Dentro de la caja se encuentra ubicada un foco en la zona frontal, en la pared izquierda se ubica la palanca y frente a esta se encuentra ubicado el dispensador de agua, el cual se encuentra conectado a una bomba peristáltica. Para la programación y desarrollo de la conducta se utilizó el programa ABETT II estándar (Lafayette Instrument versión 2.16.1), programa encargado de controlar los diferentes componentes dentro de la caja conductual y de registrar las entradas y las salidas en tiempo real de los diferentes estímulos y respuestas durante los entrenamientos.

Se condicionó a los individuos bajo una conducta operante, la cual consiste en presionar de forma voluntaria una palanca con la extremidad anterior izquierda, para esto se realizaron sesiones de 1 hora diaria por animal. Las primeras tres sesiones fueron de adecuación al lugar de entrenamiento, para lo cual se colocó a los animales dentro de la caja y se les permitió explorar. Dentro de estas primeras 3 sesiones el entrenamiento conductual consiste en que cada vez que el animal presiona la palanca recibe un estímulo reforzante (15  $\mu\text{L}$  de agua), no existe un estímulo lumínico (Fig. 2b y d Primera fase)



**Figura 2. Fases del entrenamiento.** En (a) se muestra las líneas de tiempo de los dos grupos de entrenamiento que se realizaron, el primero con una primera etapa en libre movimiento (morado) y una segunda etapa en semi-restricción (azul); el segundo grupo entrenado bajo la condición de semi-restricción (naranja) (P: Día Post-natal). El entrenamiento de los animales se dividió en dos fases en libre movimiento (superior) y dos fases en semi-restricción (inferior) (b). En la primera fase se asocia el palanqueo a la obtención de la recompensa (d, izquierda), posterior a esta se asoció el palanqueo durante un estímulo lumínico con la recompensa (d, derecha). En (c) se observa la distribución de los objetos y el animal dentro de la caja de entrenamiento. (tomado y modificado: (Santana-Chávez et al., 2020)).

Posterior a la adecuación de los animales al lugar de entrenamiento, se procede a la realización de la conducta completa, la cual incluye un estímulo visual con una duración de 3 segundos (el cual es un intervalo constante), si no se recibe una respuesta de parte del animal, este estímulo se detiene. Por el contrario, si los individuos realizan un movimiento de la extremidad anterior (palanqueo) mientras el estímulo se encuentra presente, esta respuesta provoca la finalización del estímulo sensorial y se hace entrega de un reforzador (15  $\mu$ L de agua). Durante las sesiones de 60 minutos diarios, se realizaron múltiples ensayos con intervalos variables en periodos aleatorios de 3, 4, 5 o 6 entre ensayos (periodo inter-ensayo) (Fig. 2b y d, Segunda fase).

Para disminuir los palanqueos erróneos (que se encuentran en los tiempos sin estímulo lumínico), se penalizó esta respuesta, con un tiempo fuera, el cual tiene una duración total de 8

segundos entre ensayos; tiempo que se reinicia con cada palanqueo equivocado hasta que no se reciba respuesta del animal, posterior al término de este tiempo de espera se activa el estímulo lumínico nuevamente.

Posterior a la cirugía de implantación del poste, que permite la restricción de movimiento de los animales, se realiza un condicionamiento que permite la asociación entre la restricción de movimiento con el reforzador. La técnica utilizada es la semi-restricción (inmovilización de la cabeza). Para lo cual fue necesario habituar paulatinamente a los individuos en pasos sucesivos. En primera instancia se entrena al individuo para que se posicione en el sujetador y posteriormente pueda ser inmovilizado. Para lograr lo anterior, se ofrece el reforzador (agua) después de que el animal se ubica por sí mismo dentro del sujetador, y se mantiene un periodo de espera sin retirarse de su posición, ni intentar liberarse. Al igual que en la caja de entrenamiento los periodos de espera en los que se suministraba el reforzador varían y aumentan en cada sesión. De esta forma, se logra que los animales estén restringidos de movimiento durante los 60 minutos de cada sesión, para posteriormente pasar a realizar la primera conducta (palanqueo-reforzador. Fig. 2b y d, Tercera Fase)..

Para la última fase del entrenamiento se asocia nuevamente el estímulo lumínico con una respuesta por parte de los individuos (palanqueo), bajo condiciones de semi-restricción (cabeza fija), se realiza el entrenamiento bajo las mismas condiciones en la fase estímulo-palanqueo-recompensa (Fig. 2b y d, Cuarta Fase).

## ***Cirugías***

### ***Implantación de la placa de semi-restricción***

Las ratas son anestesiadas con isoflurano y ubicadas en un aparato estereotáxico donde se les depila la parte superior de la cabeza, para realizar una incisión longitudinal. Posteriormente se realiza una limpieza de tejido conjuntivo y graso que recubre la parte superior del cráneo, con el fin de dejar visible las diferentes fisuras y puntos de referencia para la inyección de los trazadores retrógrados. Para la instalación de la placa que permite la fijación, se realizan cuatro trépanos con un taladro dental, evitando dañar la duramadre, donde se ubican tornillos de acero inoxidable autoperforantes de 1 mm, los dos primeros trépanos sujetan directamente la placa, estos se realizan en la zona ipsilateral a la extremidad que utiliza el animal para realizar el movimiento (dejando de esta forma la corteza sensoriomotora contralateral intacta); los últimos dos están ubicados en el hueso occipital y el otro en el parietal, delante de lambda.

La placa de fijación tiene forma de L y sus dimensiones son 9,5 mm de ancho X 14,5 mm de largo, con un espacio de 9,5 mm X 6 mm, el cual permitirá realizar la ventana crónica próximamente descrita. Para fijar y reforzar la placa de semi-restricción, se coloca pegamento dental (UV Te-Economic plus, Ivoclar Vivadent) justo debajo de la placa y alrededor de los tornillos, adicionalmente se cubre todo el complejo con acrílico dental (Ortho-Jet Power). Para una ampliación de la metodología consultar:(Santana-Chávez et al., 2020).

### ***Ventana crónica.***

Las ratas son anestesiadas con isoflurano, posteriormente se realiza una ventana crónica de dimensiones de 3x4 mm retirando el hueso sin dañar la duramadre. La ventana se realiza sobre la corteza sensoriomotora contralateral a la extremidad que usa el animal para realizar el

movimiento de palanqueo. Para ello, se toman como referencias las coordenadas del atlas cerebral de Paxinos y Watson (2004), donde el centro de la ventana está ubicado a 1 mm AP con respecto a bregma y 2.5 mm lateral con respecto de la línea media. Para la protección de la zona se utiliza un cubreobjetos y se sella con silicón de uso cosmético (Rubber Liquid Body Double Fast) (Fig. 2c).

### ***Registros electrofisiológicos***

Los electrofisiológicos extracelulares se realizaron utilizando electrodos de borosilicatos llenos de solución fisiológica: ringer de rata (NaCl 0.789%, KCl 0.042%, 0.119% HEPES, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.0265% MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.0204% P/V), los cuales tienen una resistencia de 7 a 10 MΩ. Los microelectrodos se ubican con un micromanipulador al inicio de la sesión y permanecen mientras los animales realizan la tarea conductual. Las señales electrofisiológicas fueron amplificadas con un amplificador Axoclamp 2-B (Axon Instruments, Foster City, CA) y posteriormente digitalizada mediante el sistema Spike2 (CED- Versión 8.11) (Fig. 2c).

Al inicio de cada sesión se retira el cubreobjetos que cubre la ventana crónica y nuevamente se vuelve a colocar al final de la sesión en condiciones estériles.

### ***Histología***

Posterior al último registro electrofisiológico los animales son anestesiados y perfundidos de manera intracardiaca. El cerebro es retirado y procesado para el posterior corte e identificación de los sitios de registro.

### ***Análisis de resultados.***

#### ***Identificación de potenciales de acción.***

Para la identificación de potenciales de acción en línea y fuera de línea se utilizó el programa Spike2 (CED- Versión 8.11). Este software identifica a las espigas con base en su forma y amplitud y permite almacenar la forma de las espigas como canales "Wavemark", a la cual asigna una marca de tiempo y un código de identificación.

Posterior a la creación de una forma de espiga, se busca coincidencias de espigas con las plantillas ya guardadas o mediante un análisis de conglomerados.

La creación de nuevas plantillas está determinada por umbrales de detección (positivos y negativos) que fueron establecidos durante el análisis, dependiendo de la observación. Estas plantillas son una serie de puntos de datos, cada uno con un ancho mínimo y máximo asociados (error esperado), que permiten determinar si una señal coincide o no con la plantilla en este punto. Con cada coincidencia este error esperado en la plantilla se reduce, limitando la coincidencia de la señal con esta forma.

El procesamiento de la señal, fue rectificado visualmente fuera de línea, para asegurarse de no tener ruido dentro de las lecturas y para seleccionar marcas o plantillas no identificadas en el momento del registro.

#### ***Obtención de densidad de espigas***

Con la finalidad de transformar la actividad neuronal como una función continua, se obtuvo la densidad de espigas (Este proceso fue llevado a cabo en el programa Matlab 2020a). Para

ello, se agruparon los tiempos de los spikes en una resolución fina (1 ms), convirtiéndolo en un vector de 0 y 1. Posterior a esto, se convoluciona este vector de ráster con una función denominada kernel (función de núcleo suave y continuo), la cual indica que tan precisos son los tiempos de las espigas (un kernel ancho implica una gran variabilidad, uno estrecho indica alta precisión). Al obtener el vector resultado de la convolución de los datos con la función kernel, se obtiene un vector con una longitud que es el resultado de la suma de la longitud de los dos vectores convolucionados menos 1, por lo cual es necesario realizar un corte de los datos de interés (Wallisch et al., 2013). Para el procedimiento anteriormente descrito fue usado el siguiente código (Matlab):

**Sigma=0.040** (s=40 ms, siendo esta la desviación estándar del kernel=40 ms)  
**Limites=[-3\*sigma:.001:3\*sigma]** (Tiempo de rango de -3desviaciones estándar hasta 3 desviaciones estándar)  
**Kernel=normpdf(limites,0,sigma)** (Evaluación de función Kernel (Gaussiana))  
**Densidad=conv(raster,Kernel)** (convolución del vector de datos con función kernel)  
**Centro=ceil (length(Limites)/2)** (se busca el punto medio de la función kernel)  
**Densidad=Densidad (Centro:1000+Centro-1)** (Se extrae la porción de interés de la densidad de espigas)

### ***Análisis de regresión lineal múltiple***

El análisis de regresión múltiple es usado para determinar la relación y grado de asociación entre una variable dependiente y variables independientes o explicativas (Jaume & Morar-Catalá, 2001). Así, este análisis permite generar un modelo lineal en que el valor de la variable dependiente (VD) o de respuesta (Y), se puede explicar por medio de variables independientes (VI) o predictoras ( $X_1, X_2, X_3, \dots, X_n$ ) (Fig. 3). El análisis de regresión lineal múltiple puede ser usado para la predicción de valores de la VD, o para evaluar qué influencia tienen las VI sobre ella (Amat-Rodrigo, 2016).

La siguiente ecuación describe el modelo mencionado:

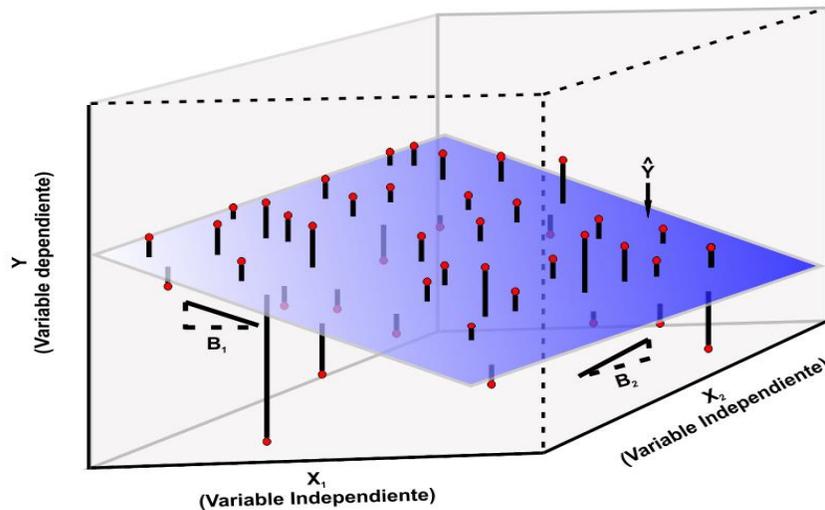
$$Y_i = (\beta_0 + \beta_1 X_{1i} + \beta_2 X_{2i} + \dots + \beta_n X_{ni}) + \varepsilon_i$$

Donde,

- $\beta_0$ : es la ordenada en el origen de la VD (Y) cuando todas las VI son cero.
- $\beta_i$ : indica la intensidad y la dirección de la relación de la VD (Y) con la VI ( $X_i$ ), cuando se mantienen constante el resto de las VI. Son los coeficientes de regresión.
- $\varepsilon_i$ : es el residuo o error, la diferencia entre el valor observado y el estimado por el modelo (Amat-Rodrigo, 2016).

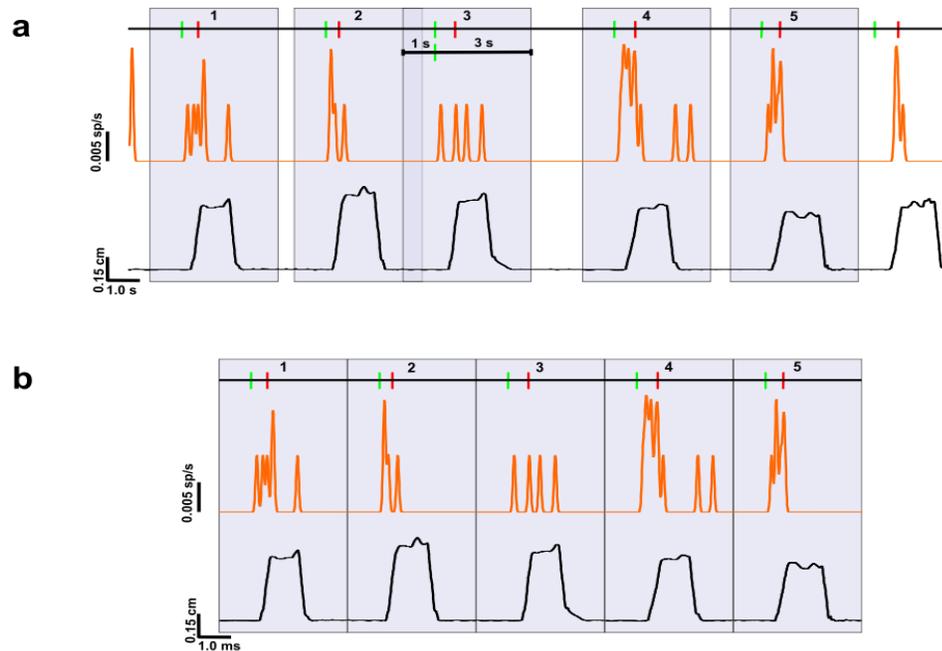
Su valor determinante es la  $R^2$ , el cual muestra que tanto las VD se ajustan (o explican) la VD, lo que indica cuanto porcentaje de la varianza de la VD es explicado (Jaume & Morar-Catalá, 2001). En resumen, el objetivo de la regresión múltiple es explicar lo más posible la variabilidad de la variable dependiente, usando la menor cantidad de variables independientes (Principio de parsimonia), adicionalmente de que no exista una correlación entre las diferentes variables independientes (Granados, 2016).

Con el fin de explicar el comportamiento de la actividad neuronal en la tarea de movimiento voluntario realizada por los animales, tratamos de explicar la densidad de espigas ( $\sigma=40$  ms) de cada una de las neuronas registradas, a través de la trayectoria de la palanca (movimiento) y el estímulo lumínico (anticipatoria).



**Figura 3. Análisis de regresión múltiple lineal.** Con el análisis de regresión múltiple lineal, se busca predecir o explicar una variable dependiente (Y), a partir de 2 o más variables independientes ( $X_1, X_2 \dots, X_n$ ). Dentro del modelo cada variable independiente posee su coeficiente ( $B_1, B_2 \dots, B_n$ ), el cual es análogo a la pendiente, y puede ser entendido como el cambio promedio que se espera en Y para un cambio en una variable independiente, cuando las otras variables independientes están fijas. Los círculos rojos son datos, y las líneas verticales negras son la distancia hasta la predicción de Y, se busca obtener los mínimos cuadrados de estas distancias, para poder así tener el mejor ajuste del modelo, siendo así su valor determinante la  $R^2$ .

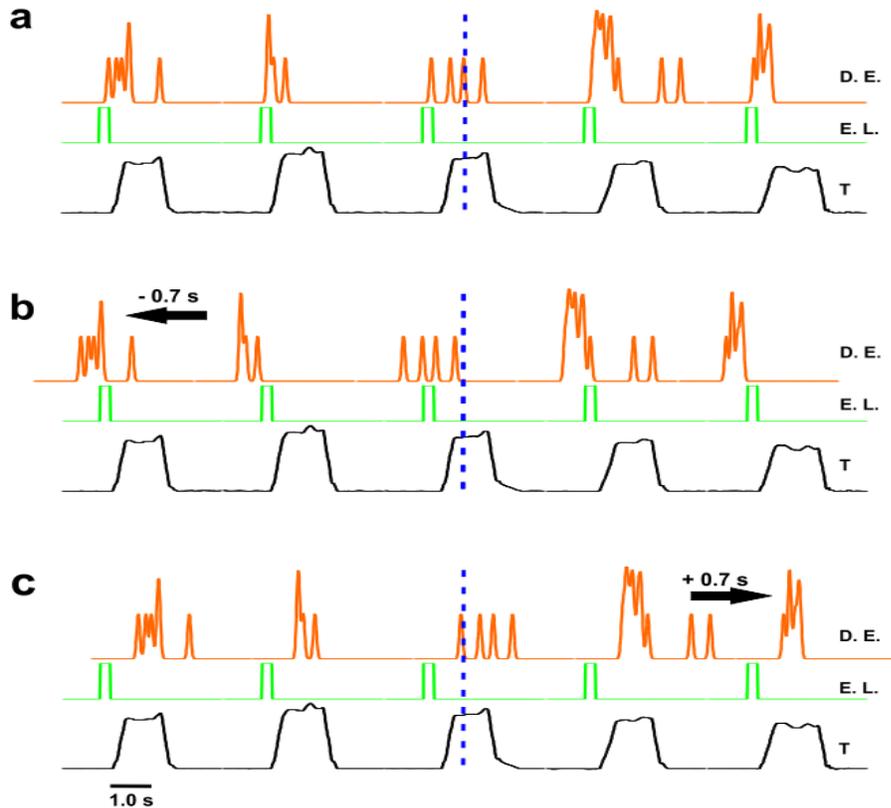
Para el análisis solo se tomaron en cuenta ensayos correctos, los cuales son definidos por la presencia de un estímulo lumínico (de duración máxima de 3 segundos), seguido de la detección de la presión de la palanca antes de terminar la luz. Para cada una de las 71 neuronas registradas se tomó el registro completo, entendido como: detección de luz, detección de palanca, trayectoria de la palanca, y respuesta neuronal, los cuales tuvieron una variación en su duración de 3 a 5 minutos. Posterior a esto se identificaron y seleccionaron los ensayos correctos (los cuales variaron de 6 a 53 por neurona), y se realizaron ventanas de 4 segundos cada una, tomando 1 segundo previo al encendido de la luz y 3 segundos posteriores a esta (Fig. 4a). Por último, las diferentes ventanas obtenidas se concatenaron para obtener un solo registro (Fig. 4b).



**Figura 4. Obtención de ventanas para el análisis de regresión lineal múltiple.** En (a) se muestra un registro (26 segundos) de una neurona ejemplo; a partir de los registros completos de las diferentes neuronas analizadas, se obtuvieron ventanas de 4 segundos, de los ensayos correctos, definiendo como ensayo correcto la presencia de un estímulo lumínico (línea vertical verde) seguido de la detección de un palanqueo (línea vertical roja). Las ventanas tuvieron su inicio 1 segundo antes de la detección del estímulo lumínico (línea vertical verde), hasta 3 segundos posteriores a este evento. Este corte fue realizado para la obtención de 4 variables, la densidad de espigas (trazo naranja), el estímulo lumínico (línea vertical verde), los palanqueos correctos (línea vertical roja), y la trayectoria del movimiento (trazo negro). Posterior a esto, las ventanas fueron concatenadas (b), obteniendo trazos continuos de las variables utilizadas para el análisis de RML, en este caso el estímulo lumínico, la trayectoria de la palanca y la densidad de espigas.

La trayectoria del palanqueo se invirtió con el objetivo de tener una mejor comprensión al analizar los datos, siendo el ascenso de la trayectoria, el descenso de la pata del animal. Adicionalmente, se transformó la detección del inicio del estímulo lumínico en una variable continua, en la cual se fijó una duración de 300 ms de encendido posteriores a la detección del inicio del estímulo (Fig. 4).

Posterior a la obtención de los ensayos correctos y con el fin de asociar el comportamiento de la actividad neuronal con el factor motor o preparatoria de la tarea, se realizaron desfases progresivos de la densidad de espigas con respecto a la trayectoria del movimiento y al estímulo lumínico (Fig. 5).



**Figura 5. Preprocesamiento para el análisis de regresión lineal múltiple, desfase de la actividad neuronal.** Para obtener un mejor análisis, se realizó o desfase de la densidad de espigas con respecto a la trayectoria (trazo negro - T) y al estímulo lumínico (trazo verde - E. L.). Posterior a la concatenación de los ensayos correctos se obtuvo un registro como en (a), donde todas las variables se encuentran alineadas y en “fase”, comenzando en el mismo punto del tiempo. Para el análisis se desfase la actividad neuronal (trazo color naranja - D. E.) con respecto a las otras dos variables en pasos de 25 ms, hasta alcanzar los -700 ms (b), donde se ve un desplazamiento de la actividad neuronal hacia el lado izquierdo, lo que significa adelantar la respuesta neuronal con respecto a la observada en (a); por otro lado, se realizó este mismo avance de la actividad neuronal cada 25 ms, hasta alcanzar un desfase de +700 ms (c), donde se ve un retraso de la actividad neuronal (un desplazamiento a la derecha) con respecto a la observada en (a). A cada desfase realizado cada 25 ms entre el rango de -700 a +700 ms (57 pasos), se les realizó el análisis de regresión lineal múltiple, con la finalidad de encontrar coeficientes óptimos para cada una de las variables independientes incluidas.

El desfase de la actividad neuronal respecto a las dos variables evaluadas, fue en pasos de 25 ms progresivos hasta alcanzar un máximo negativo de desfase de -700 ms (Fig. 5b), acumulando 28 posiciones o desfases negativos. De manera similar, se alcanzó un máximo positivo de +700 ms (Fig. 5b), acumulando 28 posiciones o desfases positivos que, sumados al ensayo sin desfase, nos proporcionó 57 análisis de regresión múltiple, de los cuales obtuvimos los coeficientes de regresión de las dos variables independientes (ver Resultados). Los segmentos de información no solapada fueron cortados para poder realizar el análisis, teniendo una pérdida de información máxima de 700 ms, lo cual fue significativo, ya que el número mínimo de ensayos correctos obtenidos para una neurona fue de 6, lo que indica que el registro mínimo sin desfase tuvo un largo de 2400 ms.

De esta manera, se realizó la búsqueda de un  $\beta$  óptimo, que pueda permitir la asociación del comportamiento de la actividad neuronal con alguna de las dos variables independientes analizadas. Así, al desplazar la actividad neuronal hacia la izquierda (desplazamientos negativos), se espera hallar  $\beta$  óptimos asociados a la luz., pues habría una concordancia entre las dos funciones (estímulo lumínico y densidad de espigas mostrando un índice  $\beta$  alto. Cabe resaltar que, para ser de índole sensorial o anticipatoria, la respuesta no debe tener un desfase óptimo mayor a los 300 ms (negativos) (Elsayed et al., 2016; Perfiliev, 1998; Romo et al., 1993). Por otro lado, si el desplazamiento es hacia la derecha, es decir, valores positivos, lo que se busca superponer es la actividad neuronal con la trayectoria. De esta manera, cuando estas dos funciones (trayectoria y densidad de espigas), se comporten de la misma manera, se encontrará el  $\beta$  óptimo para el movimiento para ese desfase específico. Solo fueron analizados los valores  $\beta$  óptimos que superan un nivel de significancia del 95% de la población de valores  $\beta$ . Para calcular el nivel de significancia del 95% se utilizó la función *bootci* de Matlab para datos no paramétricos, con 1000 muestras de arranque y como parámetro de interés la media. Esta técnica de remuestreo permite estimar estadísticas descriptivas e intervalos de confianza para muestras de datos que no cumplan supuestos de pruebas paramétricas, eligiendo muestras aleatorias y reemplazando los datos dentro de la muestra, dejando una observación fuera del subconjunto cada vez (remuestreo), y estimando el parámetro de interés, a partir del cual calcula los intervalos de confianza, en nuestro caso método de percentiles básico.

### ***Análisis de clusterización***

Con el fin de respaldar la clasificación realizada de manera subjetiva, se llevó a cabo un análisis de agrupamiento, denominado K-means, el cual es un algoritmo de clasificación no supervisada (datos no etiquetados) que agrupa objetos en un número K de grupos, a partir de sus características. Esta agrupación se realiza minimizando la suma de las distancias cuadrática entre cada uno de los objetos y el centroide correspondiente a cada grupo. Los centroides que se van modificando en cada interacción hasta encontrar la mejor optimización al problema (Huang, 1998; Shi et al., 2010).

Para nuestro caso, se tomó como valor K=6 (siendo este el número de grupos obtenidos bajo nuestra clasificación subjetiva), cabe resaltar que el resultado de este análisis depende de la inicialización de los centroides, y en un principio no converge al mínimo global sino a un mínimo local (Huang, 1998; Shi et al., 2010).

## ***Resultados***

### ***Conducta***

Con la finalidad de estandarizar la tarea conductual, se realizó un entrenamiento en una tarea de condicionamiento operante en ratas Wistar (n=15) en libre movimiento en condiciones de restricción aguda de agua, proporcionando agua durante la sesión de entrenamiento (60 min) y una hora libre posterior. Para la evaluación del paradigma conductual se definieron varios parámetros dentro de los que encontramos:

- El desempeño, el cual es definido como el porcentaje de palanqueos correctos e incorrectos, palanqueos en presencia y ausencia de estímulo lumínico, respectivamente.

$$\text{Desempeño (Correctos)} = \frac{\# \text{ de palanqueos en presencia de luz}}{\# \text{ total de palanqueos}}$$

$$\text{Desempeño (Incorrectos)} = \frac{\# \text{ de palanqueos en ausencia de luz}}{\# \text{ total de palanqueos}}$$

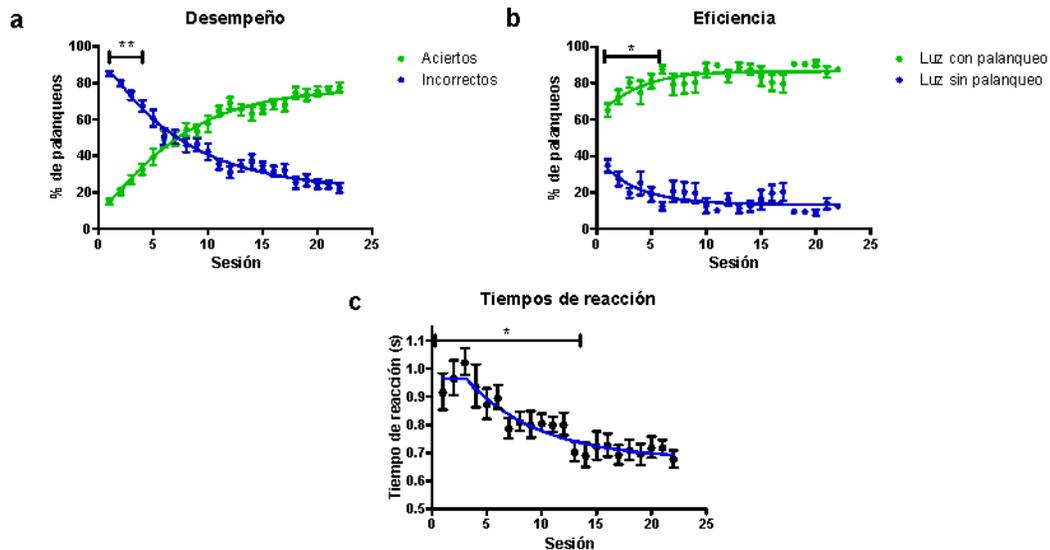
- La eficiencia, definida como el porcentaje de aciertos y omisiones durante los estímulos lumínicos.

$$\text{Eficiencia (Aciertos)} = \frac{\# \text{ de luces con respuesta (Palanqueo)}}{\# \text{ total de estímulos lumínicos}}$$

$$\text{Eficiencia (Omisiones)} = \frac{\# \text{ de luces sin respuesta (Palnqueo)}}{\# \text{ total de estímulos lumínicos}}$$

- Tiempo de reacción, el cual es el tiempo transcurrido desde el estímulo lumínico hasta la detección de un palanqueo (Desplazamiento de la palanca 1.5 cm).

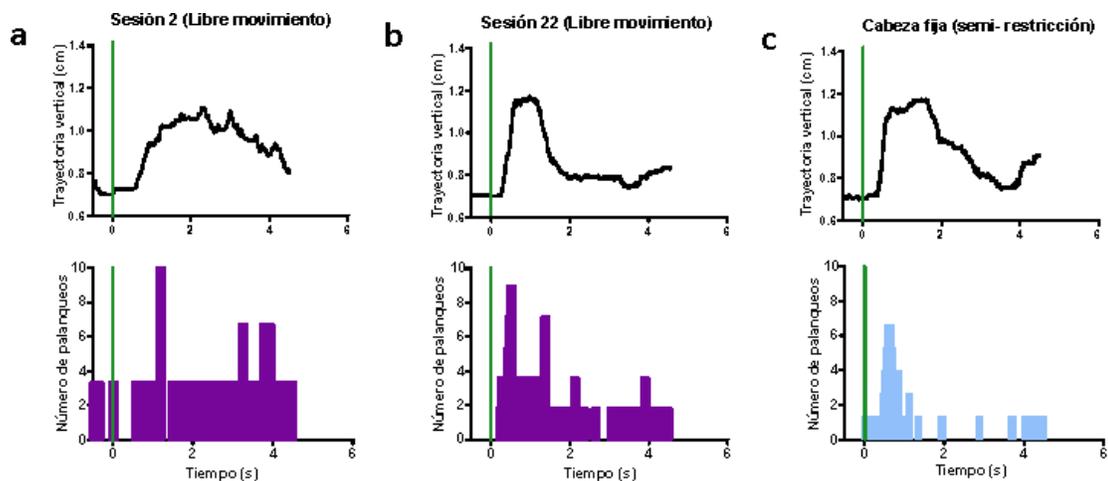
La curva de aprendizaje comienza a tender a una asíntota desde la sesión 22, donde los individuos llegan al 80% de aciertos, pero se observa una diferencia significativa desde la sesión 4 (ANOVA de medidas repetidas:  $F=8.637$ ,  $p<0.0001$ ; Bonferroni sesión 1 vs sesión 4:  $t$  4.505,  $p=0.0022$ ), además de presentar una eficiencia superior al 80% a partir de la sesión 6 (ANOVA de medidas repetidas:  $F=3.037$ ,  $p=0.0126$ ; Bonferroni sesión 1 vs sesión 6:  $t$  4.203,  $p<0.05$ ) lo cual indica que los individuos ya han asociado correctamente la tarea . Sin embargo, únicamente se ha alcanzado el 32% del desempeño, lo que sugiere que son necesarias 22 sesiones para perfeccionar el movimiento y alcanzar un desempeño óptimo (Fig. 6a).



**Figura 6. Evaluación del comportamiento en libre movimiento.** Desempeño de los individuos durante las 22 sesiones de la segunda fase de entrenamiento (a), aciertos en color verde, palanqueos incorrectos en azul. Eficiencia (b)

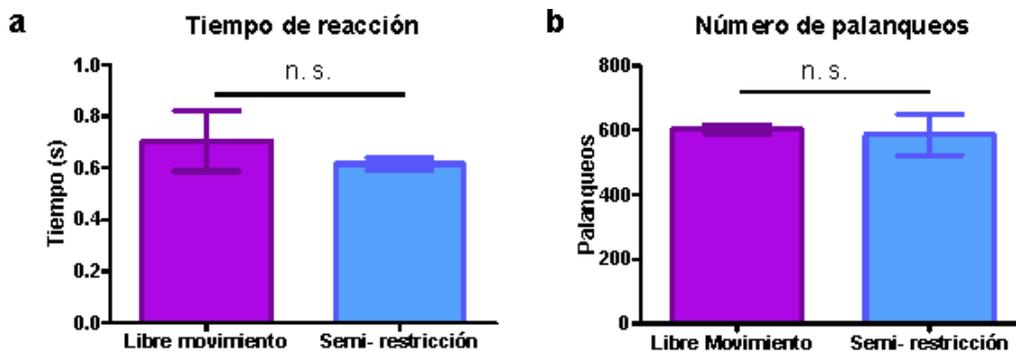
durante la segunda fase, entendida como luces con palanqueo (verde) y luces sin respuesta (azul). En (c) se puede observar el tiempo de reacción promedio de los individuos a lo largo de las sesiones. Las líneas verticales muestran el error estándar.

Los tiempos de reacción mostraron una variación significativa (ANOVA de medidas repetidas:  $F=2.485$ ,  $p=0.0055$ ), tomando valores aproximados a 1.2 segundos en las primeras sesiones, y valores cercanos a 0.6 segundos en las sesiones finales (Fig. 6c). Aunque existe una variación entre los tiempos de reacción y el perfil (dinámica temporal) del movimiento (Fig. 7), los tiempos de reacción de las últimas sesiones de la fase dos se encuentran en promedio entre los 0.4 a 0.7 segundos. Con respecto a la ejecución y trayectoria del movimiento es más precisa y constante, indicando que el entrenamiento de un movimiento motor genera una mejora en la velocidad y precisión de este.



**Figura 7. Trayectoria de la palanca durante las diferentes fases de entrenamiento para un individuo.** Trayectoria promedio (invertida), con su respectivo histograma de correlación de eventos, número de palanqueo alineado al estímulo lumínico (Palanqueos totales durante una sesión). La sesión 2 de entrenamiento de la segunda fase (a), la sesión 22 de la segunda fase (b) y sesión con semi-restricción de movimiento, cuarta fase (c). En morado sesiones en libre movimiento, en azul sesiones con semi-restricción, La línea vertical verde, muestra el inicio del estímulo lumínico. número

Para evaluar los efectos relacionados con la semi-restricción de movimiento se compararon el número de palanqueos y los tiempos de reacción de animales en libre movimiento y animales en semi-restricción (Fig. 8).. Con los datos promediados de las últimas cinco sesiones de los animales en libre movimiento ( $n=5$ ) y cinco sesiones de animales con semi-restricción ( $n=5$ ) no se observa una diferencia entre los tiempos de reacción (Prueba t de Student para datos no pareados head fixed vs libre movimiento:  $t= 0.7384$   $df= 6$ ,  $p= 0.5013$ ), ni entre el número de palanqueos por sesión (Prueba t de Student para datos no pareados head fixed vs libre movimiento:  $t= 0.3614$   $df= 6$ ,  $p= 0.7196$ ).



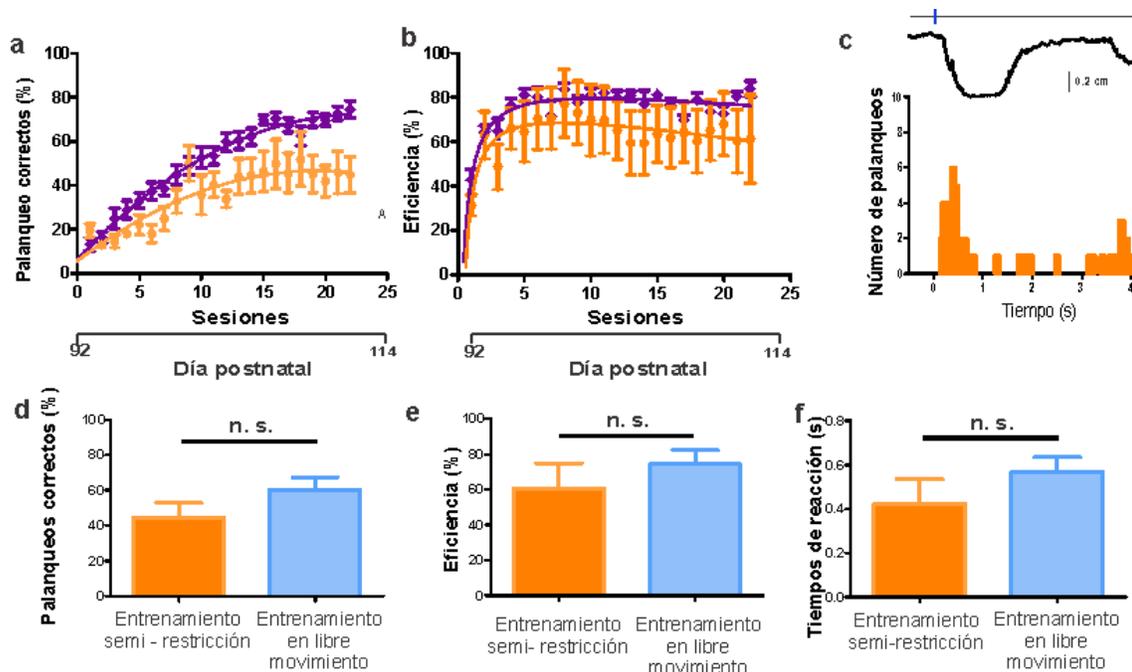
**Figura 8. Comparaciones animales en libre movimiento y animales con semi-restricción.** Comparación de tiempos de reacción (a) y número de palanqueos durante la sesión (b) de las últimas cinco sesiones de animales en libre movimiento (n=5) vs cinco sesiones de animales restringidos de movimiento (n=3). Las líneas verticales muestran el error estándar.

Estos resultados indican que no hay una diferencia significativa en la conducta realizada en libre movimiento con respecto a la realizada en condiciones de semi-restricción por lo que es un modelo adecuado para la evaluación del movimiento voluntarios requerido para el registro electrofisiológico.

Con la finalidad de comprar el aprendizaje y el desempeño motor en animales entrenados en libre movimiento y animales entrenados en condiciones de semi-restricción (Fig. 2a), se entrenaron 5 animales en un nuevo grupo (Fig. 2a, inferior) para aprender la tarea conductual en condiciones de semi-restricción de movimiento, para lo cual se utilizaron ratas con un peso promedio de 250 gramos (P60), a las cuales se les realizó la cirugía correspondiente de la implantación del poste. Posterior a esta cirugía, los animales fueron entrenados para la restricción, y por último se realizaron las fases 3 y 4. Como es posible observar en la Fig. 9, no existen diferencias significativas entre los dos grupos: animales entrenados en condición de libre movimiento (Fig. 2a, superior) y en condición de cabeza fija constante (Fig. 2a, inferior). Adicionalmente, se observa un aprendizaje similar en el movimiento (c) y un aprendizaje de la tarea (a), aunque con una pendiente ascendente en la curva de aprendizaje más lenta, llegando solo a un 55% de desempeño máximo promedio y una eficiencia promedio del 60%, experimentos realizados con 5 individuos.

Los resultados de esta sección de resultados y referentes al comportamiento fueron publicados (ver apéndice 1):

Santana-Chávez, G., Rodríguez-Moreno, P., López-Hidalgo, M., Olivares-Moreno, R., Moreno-López, Y., Rojas-Piloni, G. (2020) Operant conditioning paradigm for juxtacellular recordings in functionally identified cortical neurons during motor execution in head-fixed rats. *Journal of Neuroscience Methods*. 329:108454. doi: 10.1016/j.jneumeth.2019.108454.

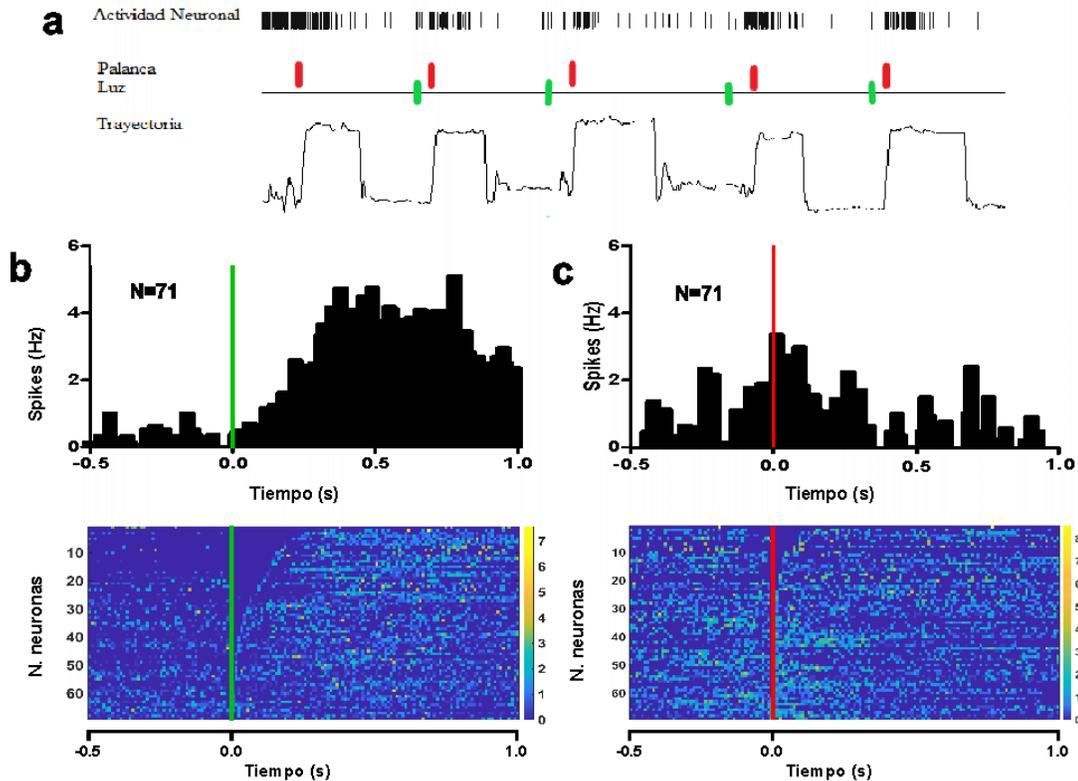


**Figura 9. Comparación entre animales entrenados en libre movimiento y con cabeza fija.** Desempeño de los animales a través de las sesiones, en naranja animales entrenados en condición de cabeza fija (n=5), en morado los animales entrenados en libre movimiento (a). Eficiencia de los animales a lo largo de las sesiones (b). Palanqueo promedio de un animal durante su última sesión de entrenamiento (c). Palanqueos correctos de animales entrenados en condición de cabeza fija (naranja) y entrenados en libre movimiento durante sus sesiones con cabeza fija (morado) (d). Eficiencia de animales entrenados en condición de cabeza fija y entrenados en libre movimiento durante sus sesiones con cabeza fija (e). Tiempo promedio de animales entrenados en condición de cabeza fija y entrenados en libre movimiento durante sus sesiones con cabeza fija (f). Las líneas verticales muestran el error estándar.

## Electrofisiología

### *Análisis de la actividad con respecto a un evento específico.*

Se registraron 71 neuronas en profundidades que van desde las 500  $\mu\text{m}$  a 1900  $\mu\text{m}$  (con una media de  $1243.946 \pm 41.32$ ) de la corteza sensoriomotora (S1 y M1). Para el análisis se realizaron histogramas perievento de los potenciales de acción alineados al estímulo lumínico y a la detección del palanqueo para todas las neuronas (Fig. 10). Es posible observar que, en general, la mayoría de las neuronas modulan su tasa de disparo con los eventos evaluados, (Fig. 10b). Sin embargo, no nos permite realizar una evaluación más detallada de la selectividad de las neuronas registradas por algún evento particular. Debido a ello, se exploró con mayor detalle las posibles asociaciones entre cada una de las neuronas registradas con la señal luminosa y con el movimiento mediante un análisis de regresión lineal múltiple.



**Figura 10. Evaluación general de las 71 neuronas obtenidas durante los registros (n=3 animales).** Registro electrofisiológico obtenido de una neurona (a), donde se observan los diferentes eventos de la tarea conductual: luz, trayectoria del palanqueo, inicio y fin del palanqueo, y actividad neuronal. Histograma periestimulo obtenido del promedio de las 71 neuronas registradas, relacionado con la luz (b) y con el palanqueo (c). En (b) y (c) se encuentra en la parte inferior el mapa de color, el cual se obtuvo a partir de los 71 histogramas perievento para cada neurona. La gama de color representa: en azul la menor actividad y en amarillo la mayor actividad.

### **Análisis de regresión lineal múltiple.**

Se registraron 71 neuronas en profundidades que van desde las 500  $\mu\text{m}$  a 1900  $\mu\text{m}$  (con una media de  $1243.946 \pm 41.32$ ) de la corteza sensoriomotora (S1 y M1) del lado derecho. Con la finalidad de evaluar si las neuronas modulan su actividad en función de algún evento, ya sea el movimiento o el estímulo lumínico, se realizó un análisis de regresión lineal múltiple. Para ello, se realizaron 57 ensayos, con diferentes desfases de la actividad neuronal con respecto al estímulo sensorial y al movimiento que van desde los -700 ms a los +700 ms (Ver metodología). Teniendo en cuenta este desfase temporal, se definió el  $\beta$  óptimo del modelo de regresión lineal múltiple para cada una de las variables independientes (movimiento o estímulo).

Para cada una de las 71 neuronas analizadas se crearon ventanas promedio de 4 segundos (1 previo y 3 posteriores) de actividad alineadas al inicio del estímulo lumínico o al inicio del palanqueo. (definido a partir de la derivada de la trayectoria donde se consideró como inicio el punto donde los valores superan el promedio de la trayectoria antes del evento del palanqueo más 2 veces su desviación estándar). Estas ventanas permiten ver el comportamiento de la actividad con respecto a las dos variables evaluadas. Adicional a esto se obtuvieron ventanas de actividad neuronal promedio de 2 segundos (1 anterior y otro

posterior a los eventos), y se graficó el comportamiento de los  $\beta$ 's del modelo de regresión lineal múltiple para las dos variables independientes para todos los desfases temporales (Fig. 11 a Fig. 16).

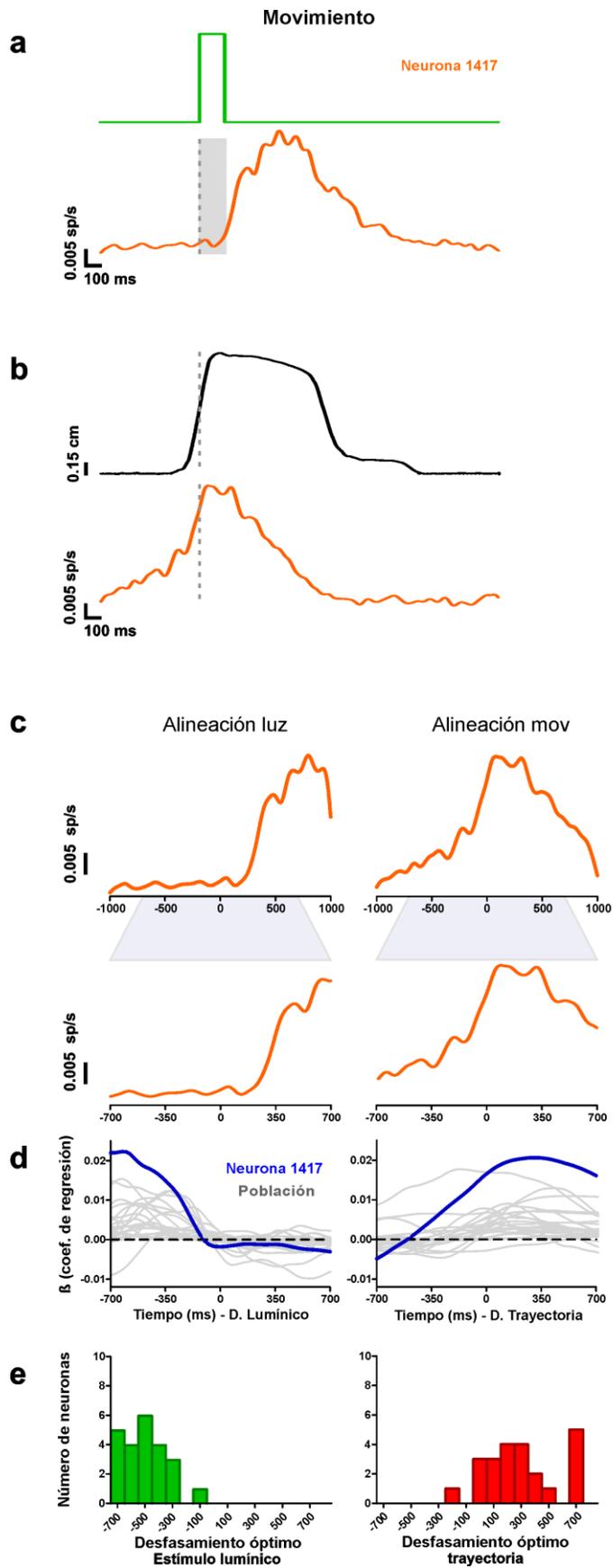
Teniendo en cuenta los resultados obtenidos con el análisis realizado, se observaron perfiles de distribución de los valores  $\beta$  característicos, obtenidos para los distintos desfases. De esta forma, se clasificaron subjetivamente a las 71 neuronas registradas en 6 categorías. Para esta clasificación se tomaron en cuenta los coeficientes de regresión óptimos ( $\beta$ ) para cada una de las variables, el desfase donde se obtuvieron estos  $\beta$  óptimos para cada variable independiente, y el tiempo de reacción promedio del individuo para los ensayos analizados.

Dentro de la clasificación de neuronas asociadas con el movimiento se ubicaron 23 (de 71) neuronas registradas, las cuales tienen un  $\beta$  óptimo para el movimiento en desfases positivos, y un aumento de la actividad cercano al inicio del movimiento. Dentro de la clasificación de neuronas anticipatorias se ubicaron 20 (de 71) neuronas, las cuales obtuvieron  $\beta$  óptimos con respecto a la luz en desfases negativos, mayores a los -300 ms, y un aumento de la actividad neuronal cercana y posterior al inicio del estímulo lumínico. Con respecto a las neuronas inhibitorias con respecto al movimiento se clasificaron 2 (de 71) neuronas, y se observaron  $\beta$  óptimos para el movimiento negativos, con desfases positivos, y una disminución de la actividad cercana al inicio del movimiento. Para las neuronas anticipatorias inhibitorias, se obtuvieron 3 (de 71) neuronas, en las cuales se observaron  $\beta$  óptimos negativos con respecto al estímulo lumínico, y una disminución de la actividad no superior a los 300 ms posteriores al inicio de la luz.

Además, se observaron 4 (de 71) neuronas asociadas con el regreso de la palanca (final del movimiento), las cuales presentaron  $\beta$  óptimos para el movimiento negativos, y su actividad comenzó muy posterior al inicio del movimiento, pero se superpuso con el regreso de la palanca. Por último, se obtuvieron 19 de (71) neuronas sin clasificar, ya que no mostraron un cambio significativo con respecto a ninguna de las dos variables evaluadas, y adicionalmente no mostraron  $\beta$  óptimos claros para ninguna de las dos variables.

### ***Neuronas que modulan su actividad con el movimiento***

Con respecto a la actividad observada en las ventanas promedio de las neuronas relacionadas con el movimiento o ejecutoras, es posible ver que la actividad de estas neuronas incrementa su actividad un poco antes del inicio del palanqueo y se mantiene durante la ejecución de este (Fig. 11b). Por el contrario, no se observó un aumento de la actividad durante el inicio del estímulo, ni en los 300 ms posteriores a este (área sombreada gris Fig. 11a). Con respecto a los  $\beta$  óptimos, se obtuvo en desfases positivos para el movimiento, cercano a los 300 ms (Fig. 11d derecha), mientras el  $\beta$  óptimo calculado para la actividad alineada al estímulo sensorial (actividad anticipatoria), se obtuvo en un desfase de -625 ms (Fig. 11d, izquierda). Este intervalo de tiempo se encuentra fuera del rango de respuesta de las neuronas anticipatorias.



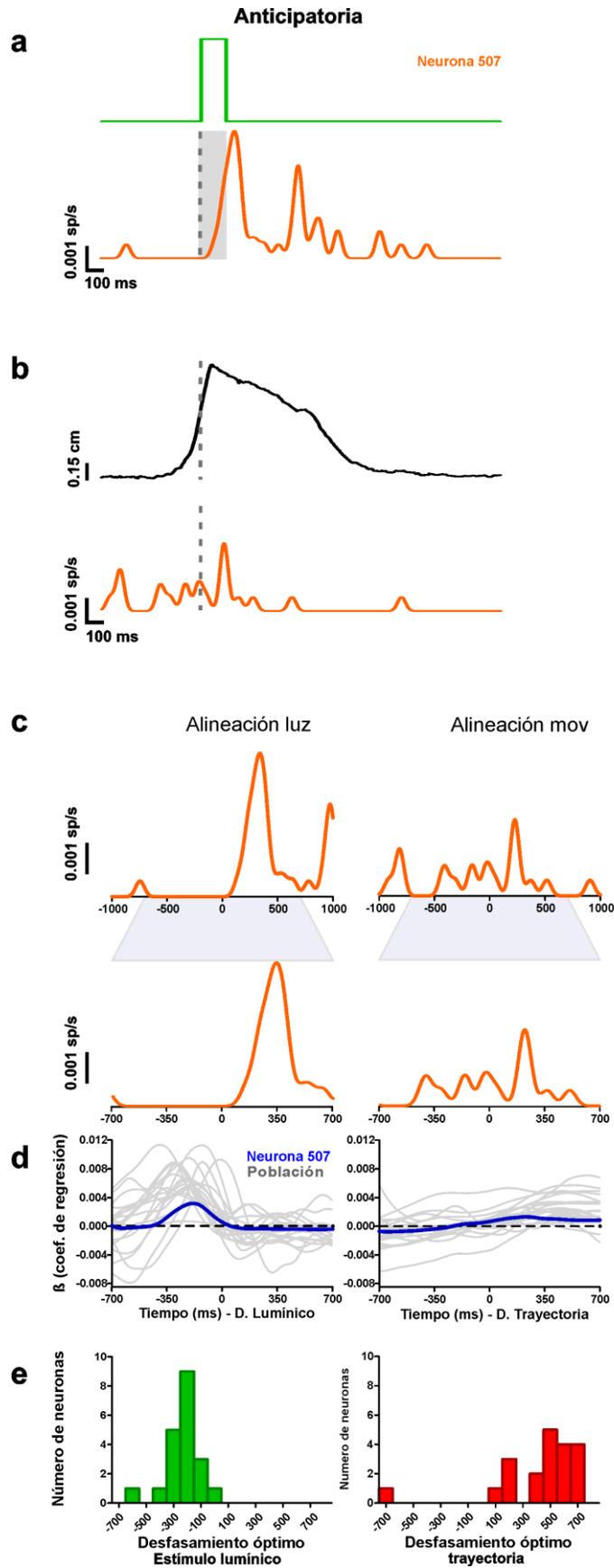
**Figura 11. Neuronas asociadas al movimiento.** Ventana de actividad neuronal promedio para una neurona relacionada con el movimiento, se tomaron ventanas de tiempo de 4 segundos, 1 segundo previo al evento evaluado y 3 posteriores a este. La línea punteada gris, representa el punto de alineación con el parámetro evaluado. **(a)** Se muestra la densidad de espigas promedio (trazo color naranja), y el estímulo lumínico (trazo color verde, estas ventanas fueron alineadas al inicio del estímulo lumínico (línea punteada). **(b)** la densidad de espigas promedio (trazo naranja) se muestra alineada al inicio del movimiento (línea punteada), y la trayectoria de la palanca invertida (trazo negro). Por cuestiones de análisis de los datos la duración de la luz se fijó a 300 ms (sombra gris), y la trayectoria de la palanca se invirtió, siendo el descenso de la pata del animal el ascenso de la trayectoria (trazo color negro). **(c)** la parte superior muestra la actividad neuronal promedio para la neurona relacionada con el movimiento, para lo cual se tomaron ventanas de tiempo de 2 segundo; 1 segundo previo y 1 segundo posterior al evento evaluado, ya fuera el estímulo lumínico (izquierda) o el inicio del palanqueo (derecha). En la parte inferior se observa una ampliación de la actividad que se encuentra entre los -700 ms y los 700 ms. **(d)** Diferentes coeficientes  $\beta$  (trazo azul) obtenidos para las variables de análisis para la neurona ejemplo mostrada en **(a)** y **(b)**, estos coeficientes fueron obtenidos a partir del desfaseamiento de la actividad neuronal, en pasos de 25 ms, en un rango de -700 ms a 700ms. **(f)** Histograma de frecuencias de los diferentes desfaseamientos óptimos obtenidos para todas las neuronas clasificadas dentro de esta categoría .

Las neuronas dentro de esta categoría tuvieron desfaseamientos óptimos para el movimiento entre -175 a 700 ms, mostrando un pico entre los 100 y 300 ms (Fig. 11f, derecha); con respecto a los desfaseamientos óptimos para la luz, estos se encontraron entre los -100 a -700 ms, presentando una mayor concentración entre -300 a -500 ms (Fig. 9f, izquierda), el tiempo de reacción promedio fue de  $679.2 \pm 222.6$  ms.

### ***Neuronas que modulan su actividad con respecto al estímulo visual (neuronas anticipatorias)***

La actividad observada en las neuronas relacionadas con el estímulo o anticipatorias, comienza su aumento justo después o dentro de los siguientes 300 ms posteriores al inicio del estímulo lumínico, esto es observado en la neurona ejemplo (Fig. 12a). Adicionalmente, no se ve un aumento durante el inicio del palanqueo, ni posterior a este (Fig. 12b). Con respecto a los  $\beta$  óptimos, se obtuvo un desfaseamiento positivo para el movimiento, cercano a los 250 ms (Fig. 12d derecha) pero de menor valor al obtenido con la luz. El  $\beta$  óptimo obtenido cuando la actividad se alineó al estímulo sensorial fue de -175 ms, (sombra gris Fig. 12a). En concordancia con una respuesta modulada por información sensorial o características de actividad preparatoria.

Las neuronas dentro de esta categoría tuvieron desfaseamientos óptimos para el movimiento entre -700 a 700 ms, mostrando un pico entre los 500 y 700 ms (Fig. 12f, derecha); con respecto a los desfaseamientos óptimos para la luz, estos se encontraron entre los -575 a 0 ms, presentando una mayor concentración entre -100 a -300 ms (Fig. 12f, izquierda), el tiempo de reacción promedio fue de  $870.8 \pm 390.1$  ms. Es importante resaltar que, aunque se obtuvieron desfaseamientos para el estímulo lumínico mayores a los -300 ms, estas neuronas tuvieron picos de actividad anteriores a los -300 ms, y respaldadas con lo observado en su actividad neuronal, asociada a uno u otro evento, fue posible clasificarlas dentro de esta categoría.

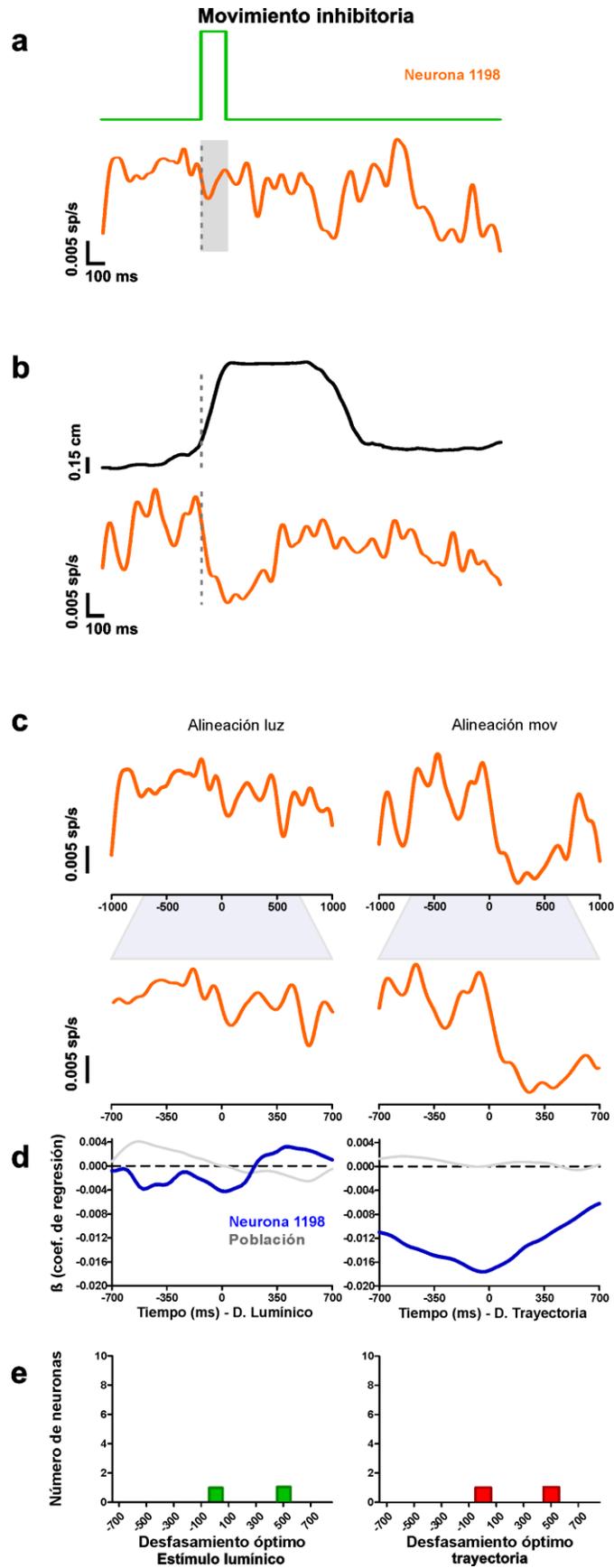


**Figura 12. Neuronas relacionadas con actividad anticipatoria del movimiento.** Ventana de actividad neuronal promedio para una neurona relacionada con actividad anticipatoria, se tomaron ventanas de tiempo de 4 segundos, 1 segundo previo al evento evaluado y 3 posteriores a este. La línea punteada gris, representa el punto de alineación con el parámetro evaluado. **(a)** Se muestra la densidad de espigas promedio (trazo color naranja), y el estímulo lumínico (trazo color verde, estas ventanas fueron alineadas al inicio del estímulo lumínico (línea punteada). **(b)** la densidad de espigas promedio (trazo naranja) se muestra alineada al inicio del movimiento (línea punteada), y la trayectoria de la palanca invertida (trazo negro). Por cuestiones de análisis de los datos la duración de la luz se fijó a 300 ms (sombra gris), y la trayectoria de la palanca se invirtió, siendo el descenso de la pata del animal el ascenso de la trayectoria (trazo color negro). **(c)** la parte superior se muestra la actividad neuronal promedio para la neurona relacionada con el estímulo lumínico, para lo cual se tomaron ventanas de tiempo de 2 segundos; 1 segundo previo y 1 segundo posterior al evento evaluado, ya fuera el estímulo lumínico (izquierda) o el inicio del palanqueo (derecha). En la parte inferior se observa una ampliación de la actividad que se encuentra entre los -700 ms y los 700 ms. **(d)** Diferentes coeficientes  $\beta$  (trazo azul) obtenidos para las variables de análisis para la neurona ejemplo mostrada en **(a)** y **(b)**, estos coeficientes fueron obtenidos a partir del desfaseamiento de la actividad neuronal, en pasos de 25 ms, en un rango de -700 ms a 700ms. **(f)** Histograma de frecuencias de los diferentes desfaseamientos óptimos obtenidos para todas las neuronas clasificadas dentro de esta categoría .

### ***Neuronas que se inhiben con el movimiento***

Se encontraron únicamente 2 neuronas que se inhiben durante el movimiento, las cuales empiezan a inhibirse al inicio del palanqueo y ésta se mantiene durante toda su ejecución (Fig. 13b). Por el contrario, no se ve un cambio de actividad durante el inicio del estímulo, ni en los 300 ms posteriores a este (área sombreada en gris, Fig. 13a). Con respecto a los  $\beta$  óptimos, en la neurona ejemplo se obtuvo un desfaseamiento óptimo negativo cuando se alineó la actividad al inicio del movimiento, cercano a los -75 ms (Fig. 13d derecha). Por el contrario, el  $\beta$  óptimo cuando la actividad se alineó con el estímulo se obtuvo en un desfaseamiento de 425 ms (Fig. 13d, izquierda), siendo este positivo. Esto indica que el posible aumento de la actividad sucede antes del inicio del estímulo lumínico, además de que no se muestra un pico claro para los diferentes desfaseamientos alineados al estímulo lumínico.

Las neuronas dentro de esta categoría tuvieron desfaseamientos óptimos negativos para el movimiento entre -50 a 550 ms, sin mostrar un pico definido (Fig. 13f, derecha). es importante resaltar que para esta clasificación no fueron tomados en cuenta los desfaseamientos óptimos positivos relacionados con el movimiento, sino los desfaseamientos óptimos negativos (mostrados en el histograma); con respecto a los desfaseamientos óptimos para la luz, estos se encontraron entre los 25 a 550 ms (Fig. 13f, izquierda), el tiempo de reacción promedio fue de  $1408.1 \pm 321.3$  ms.

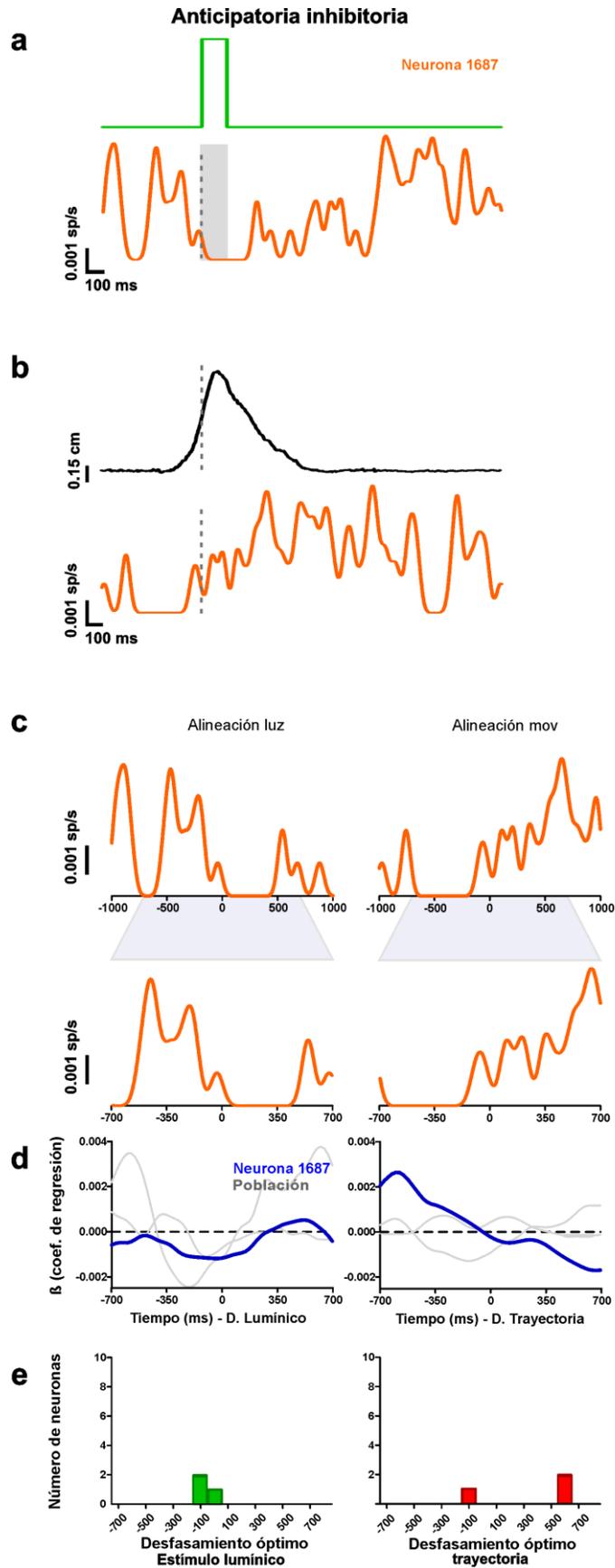


**Figura 13. Neuronas que se inhiben con el movimiento.** Ventana de actividad neuronal promedio para una neurona que presenta inhibición con el movimiento, se tomaron ventanas de tiempo de 4 segundos, 1 segundo previo al evento evaluado y 3 posteriores a este. La línea punteada gris, representa el punto de alineación con el parámetro evaluado. **(a)** Se muestra la densidad de espigas promedio (trazo color naranja), y el estímulo lumínico (trazo color verde, estas ventanas fueron alineadas al inicio del estímulo lumínico (línea punteada)). **(b)** la densidad de espigas promedio (trazo naranja) se muestra alineada al inicio del movimiento (línea punteada), y la trayectoria de la palanca invertida (trazo negro). Por cuestiones de análisis de los datos la duración de la luz se fijó a 300 ms (sombra gris), y la trayectoria de la palanca se invirtió, siendo el descenso de la pata del animal el ascenso de la trayectoria (trazo color negro). **(c)** la parte superior se muestra la actividad neuronal promedio para la neurona que presenta inhibición con el movimiento, para lo cual se tomaron ventanas de tiempo de 2 segundo; 1 segundo previo y 1 segundo posterior al evento evaluado, ya fuera el estímulo lumínico (izquierda) o el inicio del palanqueo (derecha). En la parte inferior se observa una ampliación de la actividad que se encuentra entre los -700 ms y los 700 ms. **(d)** Diferentes coeficientes  $\beta$  (trazo azul) obtenidos para las variables de análisis para la neurona ejemplo mostrada en **(a)** y **(b)**, estos coeficientes fueron obtenidos a partir del desfaseamiento de la actividad neuronal, en pasos de 25 ms, en un rango de -700 ms a 700 ms. **(f)** Histograma de frecuencias de los diferentes desfaseamientos óptimos obtenidos para todas las neuronas clasificadas dentro de esta categoría.

### ***Neuronas que se inhiben con respecto al estímulo visual o con actividad anticipatoria inhibitoria***

La actividad observada en las neuronas que se inhiben con respecto al estímulo sensorial o con actividad anticipatoria inhibitoria, comienza su inhibición justo después o dentro de los siguientes 300 ms posteriores al inicio del estímulo lumínico (Fig. 14a). Por el contrario, no se ve un aumento durante el inicio del palanqueo, ni posterior a este o asociado a su ejecución (Fig. 14b). Con respecto a los  $\beta$  óptimos, se obtuvo un desfaseamiento óptimo positivo cuando se alineó la actividad al inicio del movimiento, cercano a los -600 ms (Fig. 14d derecha). El  $\beta$  óptimo negativo para el estímulo se obtuvo en un desfaseamiento de -50 ms (Fig. 14a), dentro del rango de respuesta de las neuronas anticipatorias. En este caso, se tiene en cuenta el  $\beta$  óptimo negativo, ya que la neurona presenta una inhibición y no una activación.

Las neuronas dentro de esta categoría tuvieron desfaseamientos óptimos negativos para el movimiento entre -125 a 675 ms (Fig. 14f, derecha; con respecto a los desfaseamientos óptimos para la luz, estos se encontraron entre los -200 a -25 ms, mostrando un pico definido entre 0 y -200 ms (Fig. 14f, izquierda). Es importante resaltar que, para esta clasificación no fueron tomados en cuenta los desfaseamientos óptimos positivos relacionados con el estímulo lumínico, sino los desfaseamientos óptimos negativos (mostrados en el histograma), con respecto al tiempo de reacción promedio fue de  $698.9 \pm 259.9$  ms.



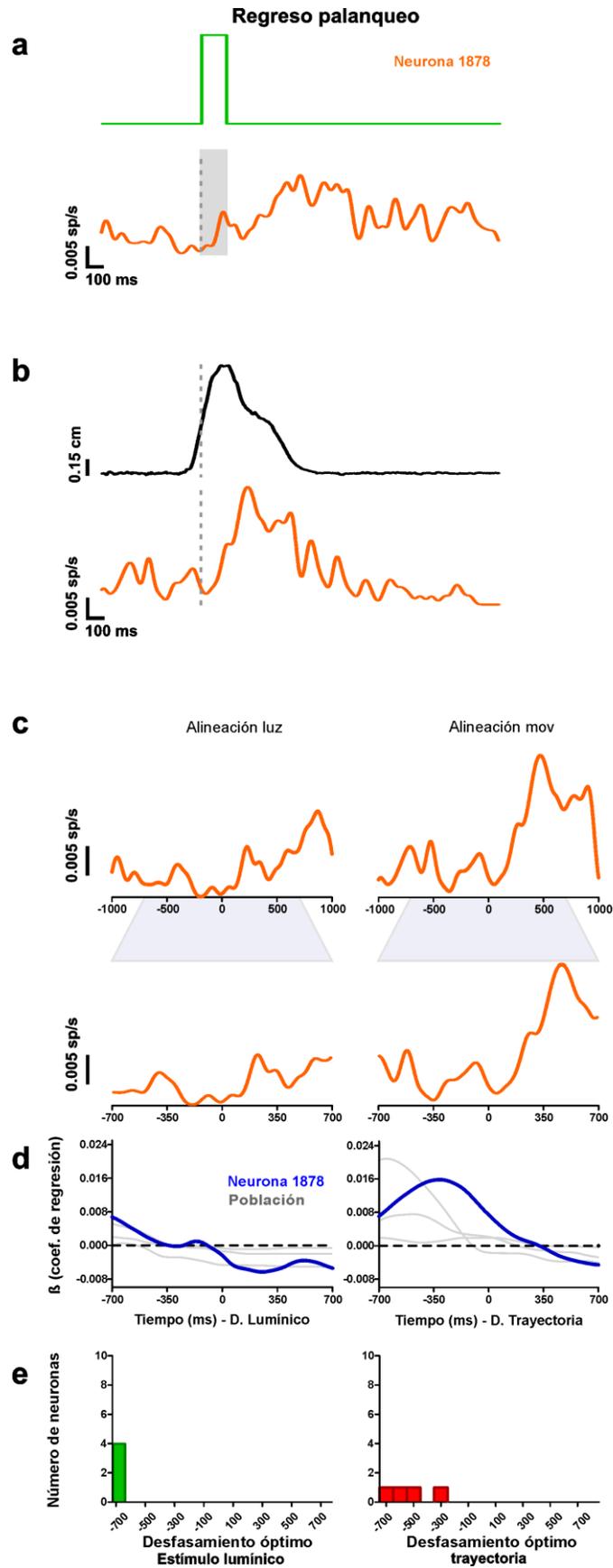
**Figura 14. Neuronas que presentan actividad inhibitoria anticipatoria al movimiento.** Ventana de actividad neuronal promedio para una neurona que presenta actividad anticipatoria inhibitoria, se tomaron ventanas de tiempo de 4 segundos, 1 segundo previo al evento evaluado y 3 posteriores a este. La línea punteada gris, representa el punto de alineación con el parámetro evaluado. **(a)** Se muestra la densidad de espigas promedio (trazo color naranja), y el estímulo lumínico (trazo color verde, estas ventanas fueron alineadas al inicio del estímulo lumínico (línea punteada). **(b)** la densidad de espigas promedio (trazo naranja) se muestra alineada al inicio del movimiento (línea punteada), y la trayectoria de la palanca invertida (trazo negro). Por cuestiones de análisis de los datos la duración de la luz se fijó a 300 ms (sombra gris), y la trayectoria de la palanca se invirtió, siendo el descenso de la pata del animal el ascenso de la trayectoria (trazo color negro). **(c)** la parte superior se muestra la actividad neuronal promedio para la neurona que presenta actividad inhibitoria anticipatoria, para lo cual se tomaron ventanas de tiempo de 2 segundo; 1 segundo previo y 1 segundo posterior al evento evaluado, ya fuera el estímulo lumínico (izquierda) o el inicio del palanqueo (derecha). En la parte inferior se observa una ampliación de la actividad que se encuentra entre los -700 ms y los 700 ms. **(d)** Diferentes coeficientes  $\beta$  (trazo azul) obtenidos para las variables de análisis para la neurona ejemplo mostrada en **(a)** y **(b)**, estos coeficientes fueron obtenidos a partir del desfaseamiento de la actividad neuronal, en pasos de 25 ms, en un rango de -700 ms a 700 ms **(f)** Histograma de frecuencias de los diferentes desfaseamientos óptimos obtenidos para todas las neuronas clasificadas dentro de esta categoría.

### ***Neuronas que modulan su actividad con el regreso de la palanca (fase de flexión)***

Con respecto a la actividad observada en las neuronas relacionadas con el regreso del palanqueo (fase flexora del palanqueo), es posible ver que su actividad comienza su aumento un poco antes del final del palanqueo y se mantiene durante la ejecución de este (Fig. 15b). Por el contrario, no se ve un aumento considerable durante el inicio del estímulo, ni en los 300 ms posteriores a este (área sombreada gris, Fig. 15a).

El  $\beta$  óptimo negativo para el movimiento, se obtuvo en desfaseamientos positivos, cercano a los 600 ms. Ya que la actividad y la trayectoria de la palanca en su parte final son inversamente proporcionales, se toma como  $\beta$  óptimo el máximo negativo (Fig. 15d derecha). El  $\beta$  óptimo positivo para el estímulo se obtuvo en un desfaseamiento de -650 ms, fuera del rango de respuesta de las neuronas anticipatorias; y no presenta un pico claro en los desfaseamientos.

Las neuronas dentro de esta categoría tuvieron desfaseamientos óptimos positivos para el movimiento entre -700 a -350 ms, sin mostrar un pico definido (Fig. 15f, derecha). Es importante resaltar que para esta clasificación no fueron tomados en cuenta los desfaseamientos óptimos positivos relacionados con el movimiento, sino los desfaseamientos óptimos negativos (no mostrados en el histograma). Respecto a los desfaseamientos óptimos para la luz, estos se encontraron entre los -650 a -700 ms, siendo muy lejanos de una respuesta anticipatoria (Fig. 15f, izquierda), el tiempo de reacción promedio fue de  $480.7 \pm 133.6$  ms.

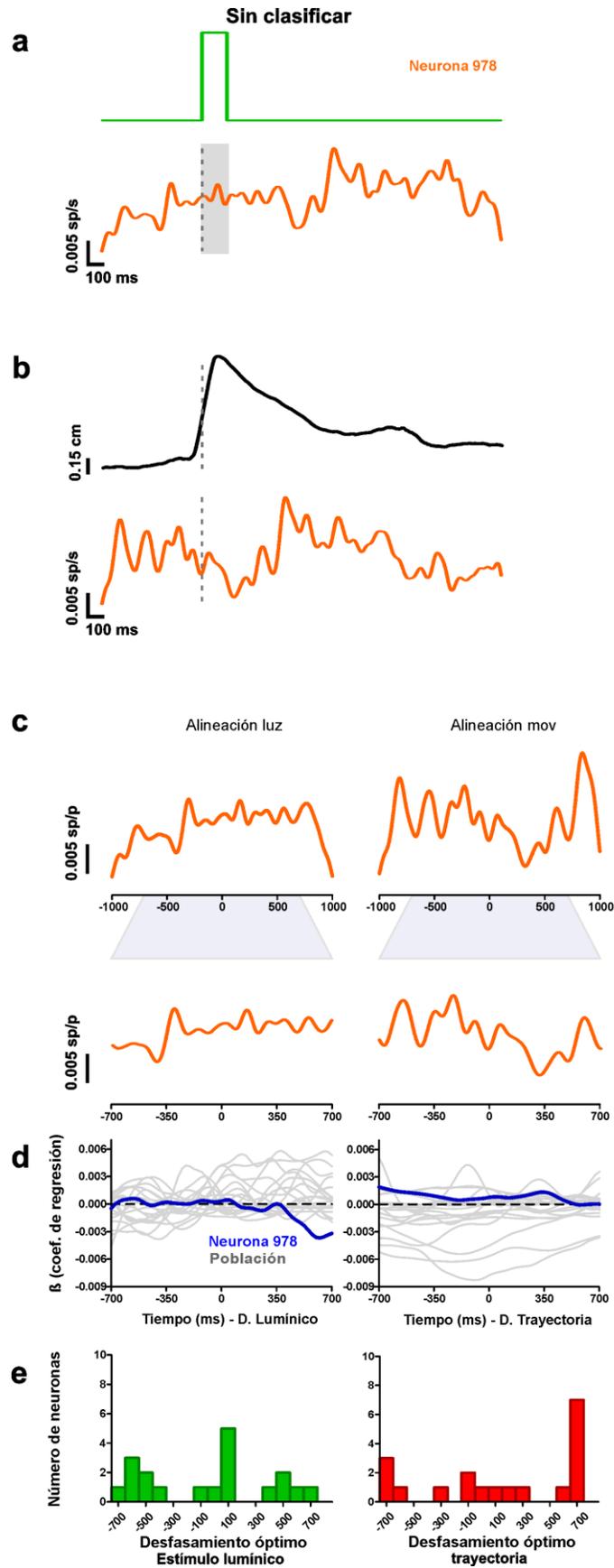


**Figura 15. Neuronas que modulan su actividad con el regreso de la palanca.** Ventana de actividad neuronal promedio para una neurona que presenta modulación con el regreso de la palanca, se tomaron ventanas de tiempo de 4 segundos, 1 segundo previo al evento evaluado y 3 posteriores a este. La línea punteada gris, representa el punto de alineación con el parámetro evaluado. **(a)** Se muestra la densidad de espigas promedio (trazo color naranja), y el estímulo lumínico (trazo color verde, estas ventanas fueron alineadas al inicio del estímulo lumínico (línea punteada). **(b)** la densidad de espigas promedio (trazo naranja) se muestra alineada al inicio del movimiento (línea punteada), y la trayectoria de la palanca invertida (trazo negro). Por cuestiones de análisis de los datos la duración de la luz se fijó a 300 ms (sombra gris), y la trayectoria de la palanca se invirtió, siendo el descenso de la pata del animal el ascenso de la trayectoria (trazo color negro). **(c)** la parte superior se muestra la actividad neuronal promedio para la neurona que presenta modulación con el regreso de la palanca, para lo cual se tomaron ventanas de tiempo de 2 segundo; 1 segundo previo y 1 segundo posterior al evento evaluado, ya fuera el estímulo lumínico (izquierda) o el inicio del palanqueo (derecha). En la parte inferior se observa una ampliación de la actividad que se encuentra entre los -700 ms y los 700 ms. **(d)** Diferentes coeficientes  $\beta$  (trazo azul) obtenidos para las variables de análisis para la neurona ejemplo mostrada en **(a)** y **(b)**, estos coeficientes fueron obtenidos a partir del desfaseamiento de la actividad neuronal, en pasos de 25 ms, en un rango de -700 ms a 700 ms. **(f)** Histograma de frecuencias de los diferentes desfaseamientos óptimos obtenidos para todas las neuronas clasificadas dentro de esta categoría.

### ***Neuronas sin clasificar***

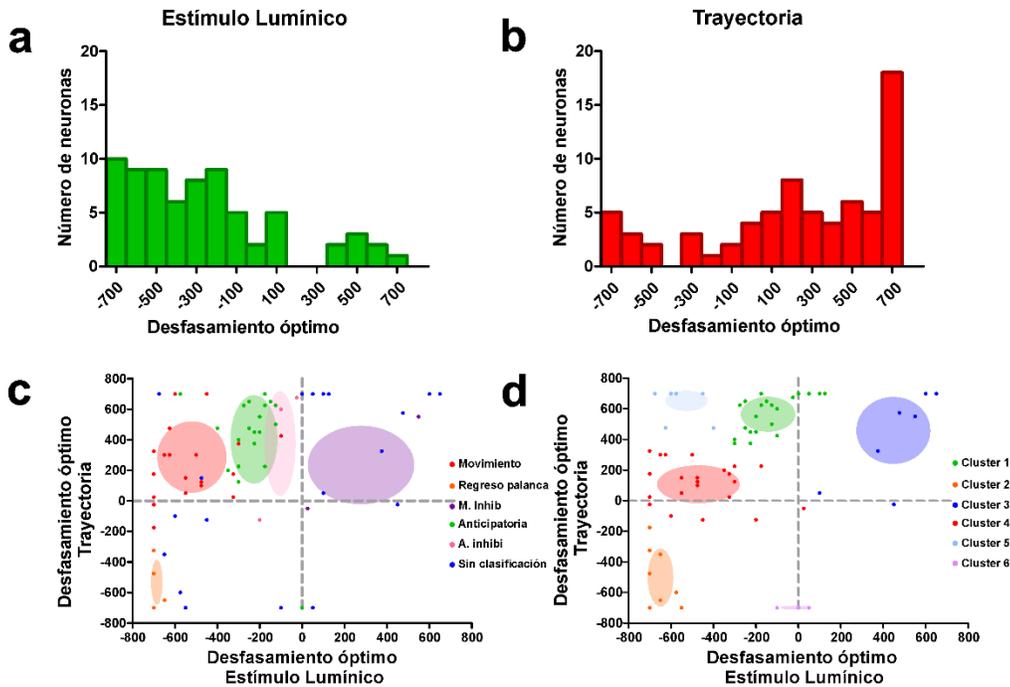
La actividad observada en las neuronas sin clasificar, no muestran un cambio claro de su actividad al inicio o dentro de los siguientes 300 ms posteriores al inicio del estímulo lumínico (Fig. 16a). Adicionalmente, no se ve un cambio claro durante el inicio del palanqueo, ni posterior a este o asociado a su ejecución (Fig. 16b). Con respecto a los  $\beta$ s del movimiento, tampoco se observa una tendencia clara (Fig. 16d, derecha). Los  $\beta$ s para el estímulo tampoco presentan una tendencia clara, lo cual corresponde a la actividad promedio observada al alinear ya sea al estímulo lumínico (Fig. 16c, lado izquierdo), o al movimiento (Fig. 16c, lado derecho), donde se ve actividad sin ninguna tendencia. Por lo cual no es posible clasificarlas.

Las neuronas dentro de esta categoría tuvieron desfaseamientos óptimos para el movimiento entre -700 a 700 ms, mostrando un pico entre los -100 y 100 ms (Fig. 16f, derecha); con respecto a los desfaseamientos óptimos para la luz, estos se encontraron entre los -675 a 650 ms, presentando una mayor concentración entre 500 a 700 ms (Fig. 16f, izquierda), el tiempo de reacción promedio fue de  $1233.3 \pm 495.4$  ms.



**Figura 16. Neuronas sin clasificación.** Ventana de actividad neuronal promedio para una neurona sin clasificar, se tomaron ventanas de tiempo de 4 segundos, 1 segundo previo al evento evaluado y 3 posteriores a este. La línea punteada gris, representa el punto de alineación con el parámetro evaluado. **(a)** Se muestra la densidad de espigas promedio (trazo color naranja), y el estímulo lumínico (trazo color verde, estas ventanas fueron alineadas al inicio del estímulo lumínico (línea punteada)). **(b)** la densidad de espigas promedio (trazo naranja) se muestra alineada al inicio del movimiento (línea punteada), y la trayectoria de la palanca invertida (trazo negro). Por cuestiones de análisis de los datos la duración de la luz se fijó a 300 ms (sombra gris), y la trayectoria de la palanca se invirtió, siendo el descenso de la pata del animal el ascenso de la trayectoria (trazo color negro). **(c)** la parte superior se muestra la actividad neuronal promedio para la neurona que no presentan ningún tipo de modulación, para lo cual se tomaron ventanas de tiempo de 2 segundo; 1 segundo previo y 1 segundo posterior al evento evaluado, ya fuera el estímulo lumínico (izquierda) o el inicio del palanqueo (derecha). En la parte inferior se observa una ampliación de la actividad que se encuentra entre los -700 ms y los 700 ms. **(d)** Diferentes coeficientes  $\beta$  (trazo azul) obtenidos para las variables de análisis para la neurona ejemplo mostrada en **(a)** y **(b)**, estos coeficientes fueron obtenidos a partir del desfase de la actividad neuronal, en pasos de 25 ms, en un rango de -700 ms a 700 ms. **(f)** Histograma de frecuencias de los diferentes desfases óptimos obtenidos para todas las neuronas clasificadas dentro de esta categoría.

La distribución de los desfases óptimos de las neuronas registradas (Fig. 17a), muestra que para cuando se alineó la actividad neuronal con el inicio del estímulo lumínico, los coeficientes  $\beta$  óptimos se agruparon entre los -100 y -700 ms. Esto implica que al desplazar la actividad neuronal hacia donde se localiza el estímulo lumínico se maximiza la correlación entre la actividad neuronal y el estímulo.



**Figura 17. Comparación entre la clasificación subjetiva de las neuronas y la obtenida por medio de K-means.** Se obtuvieron los desfases donde los coeficientes de las variables independientes, fueron los óptimos. Se muestra un histograma de frecuencia donde se observa la proporción de neuronas que obtuvieron coeficientes óptimos para los desfases entre -700 y +700 ms para la variable de estímulo lumínico **(a)** y la trayectoria de la palanca **(b)**. En **(c)**, se observa la relación entre el desfase donde se obtuvo el valor máximo de coeficiente para el estímulo lumínico vs el desfase donde se obtuvo el coeficiente óptimo para la trayectoria, para cada una de las 71 neuronas evaluadas. En **(d)**, se muestra la clasificación obtenida para las 71 neuronas evaluadas a partir del algoritmo de agrupamiento K-means. Las elipses de colores muestran donde se

reunen las neuronas de los diferentes grupos, estas fueron obtenidas a partir del promedio de cada grupo de datos +/- su desviación estándar. El asterisco muestra la diferencia significativa obtenida para la prueba t no pareada.

Por otro lado, los desfases obtenidos para la variable independiente de la trayectoria (Fig. 17b), se concentran desfases positivos entre 100 y 700 ms, lo cual indica una mayor correlación entre la actividad neuronal y el ascenso de la trayectoria del palanqueo.

En la Fig. 17c, se relacionan los desfases óptimos para el estímulo con los desfases óptimos del movimiento, donde vemos una mayor agrupación en el cuadrante superior izquierdo. Sin embargo, se pueden diferenciar a las neuronas asociadas al movimiento de aquellas más relacionadas con actividad anticipatoria. Por último, en la figura 17d, se puede observar los resultados del análisis de agrupamiento k-means, donde se buscó separar las 71 neuronas evaluadas en los 6 grupos que se plantearon en nuestra clasificación. Dentro de esta clasificación no subjetiva se muestran 3 grupos claros que muestran similitudes con nuestros resultados, como lo son las neuronas asociadas al movimiento (rojo), neuronas anticipatorias (verde) y neuronas relacionadas con el regreso de la palanca (naranja). Con respecto a las otras dos clasificaciones como lo son: las anticipatorias que presentan inhibición, podemos observar que estas presentan superposición con las neuronas anticipatorias que se activan, mientras que el grupo de las neuronas que se inhiben con el movimiento al presenta una población de solo dos neuronas, lo cual no permite hacer una clara separación del grupo.

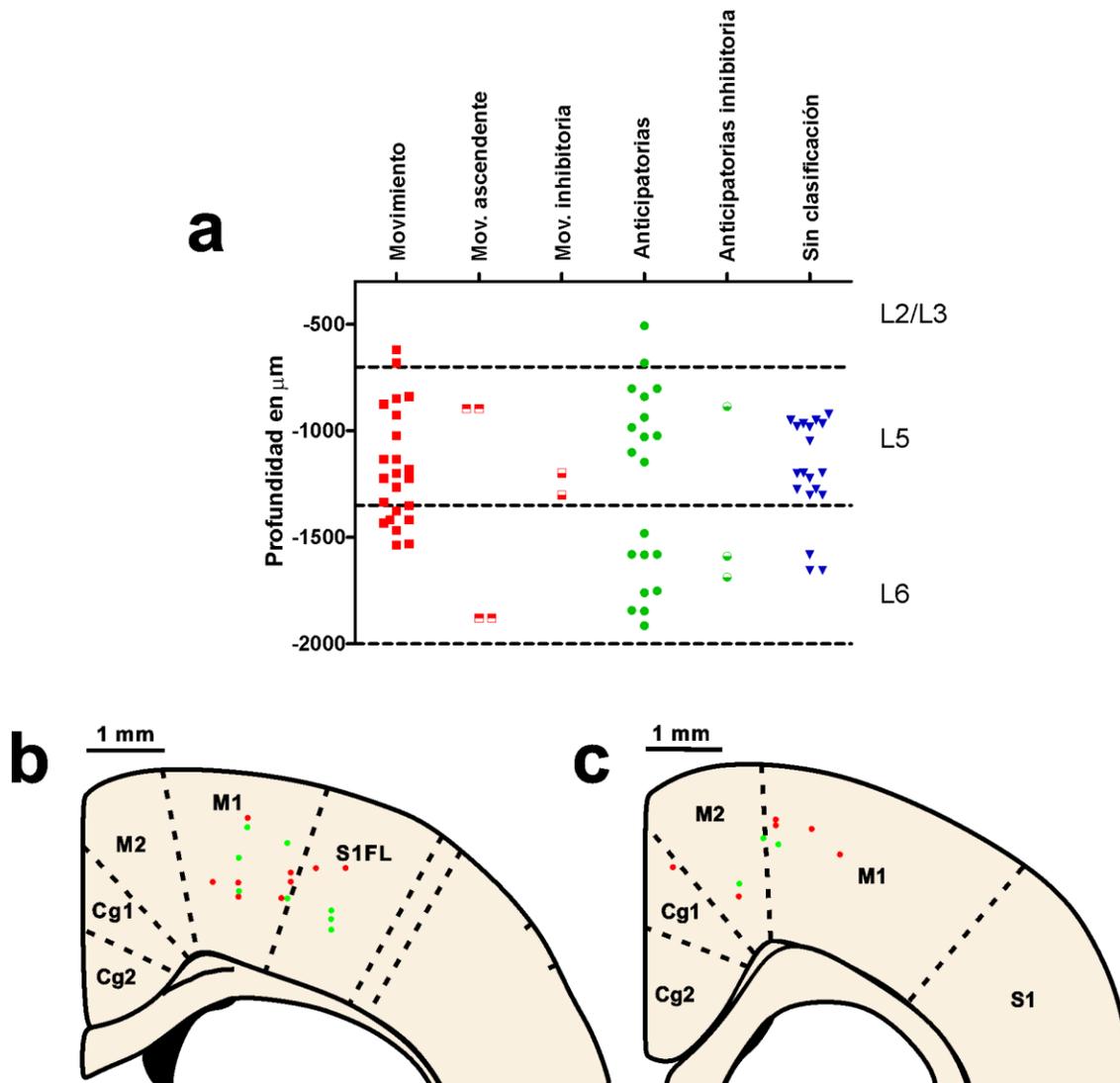
Se realizaron pruebas estadísticas con la finalidad de encontrar diferencias entre los desfases óptimos entre las neuronas moduladas por el movimiento (Fig. 11) y las neuronas moduladas por actividad anticipatoria (Fig. 12). En primer lugar, se realizó una prueba de normalidad D'Agostino & Pearson, la cual dio como resultado:

	Desfase óptimo	K <sup>2</sup>	p-valor	Normalidad
Moduladas movimiento	movimiento	1.805	0.4055	Si
	luz	4.256	0.1191	Si
Moduladas estímulo lumínico	movimiento	27.33	< 0.0001	No
	luz	7.214	0.0271	No

Tabla 1. Resultados prueba de normalidad D'Agostino & Pearson.

para lo cual se realizó una prueba t no pareada para datos no paramétricos, donde se realizó la comparación entre los desfases óptimos para el movimiento y entre los desfases óptimos con respecto a la luz para las dos clasificaciones neuronales. Se encontró una diferencia significativa entre los desfases con respecto al estímulo lumínico entre las neuronas moduladas por la luz y las neuronas moduladas por el movimiento (p-valor<0.001, t=6.553 df=41), pero no se encontró una diferencia significativa en los desfases con respecto al movimiento dentro de estas dos poblaciones neuronales (p-valor=0.1764, t=1.376, df=41).

Con respecto a la ubicación espacial de las diferentes neuronas registradas, no se observó una relación entre los grupos de clasificación y las profundidades a las cuales se registraron las neuronas (Fig. 18).



**Figura 18. Tipos de neuronas versus profundidad de registro.** (a) Profundidades de las 71 neuronas registradas, según el grupo en el que fueron clasificadas. Posición medio lateral de neuronas sensoriales (verde) y motoras (rojo) en coordenadas antero posteriores (bregma) de 0.4 mm (b) y 1.9 mm (c). La posición de las neuronas fue determinada con base las coordenadas otorgadas por el micromanipulador.

## **Discusión**

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizó un modelo de condicionamiento operante en ratas, el cual consistió en la ejecución de un movimiento voluntario (presión de una palanca), al percibir un estímulo lumínico, en una condición de semi-restricción (cabeza fija). Este entrenamiento, se llevó a cabo a partir de aproximaciones sucesivas y con el uso del agua como estímulo reforzador (restricción aguda). Asimismo, estuvo compuesto por 4 fases, las dos primeras en libre movimiento y las 2 últimas en semi-restricción.

Con respecto a las fases en libre movimiento, en la que los animales asocian la presencia de la luz con un sucesivo palanqueo para recibir un reforzador, es posible observar que los animales realizan esta asociación desde la sexta sesión (Fig. 6b). Sin embargo, alcanzan un desempeño óptimo alrededor de la sesión 22 de entrenamiento, en la cual se alcanza una asíntota en el número de palanqueos correctos, siendo estos cercanos al 80% (Fig. 6a). Asimismo, los tiempos de reacción muestran una disminución a lo largo de las sesiones alcanzando valores cercanos a los 600 ms (Fig. 6c).

El condicionamiento operante puede implicar varias fases para un aprendizaje sensoriomotor, entre las cuales encontramos: el aprendizaje perceptual, en la que se optimiza la representación de los estímulos sensoriales relevantes. El aprendizaje asociativo definido como la asociación de un estímulo específico que se combina con una respuesta motora particular; y el aprendizaje motor, el cual está dado por la optimización de las habilidades motoras, lo cual implica una mejora de la velocidad, ejecución estereotipada y precisión (Laubach et al., 2000; Makino et al., 2016; Papale & Hooks, 2018). Teniendo en cuenta las diferentes fases del aprendizaje sensoriomotor, se puede inferir que, dentro de la tarea evaluada en este trabajo, participan circuitos independientes que modulan la conducta de los animales. En este sentido, las primeras dos fases (perceptiva y asociativas) son temporalmente previas (Fig. 6b).

Después de las fases perceptivas y la asociación de estímulo-respuesta, es necesario el aprendizaje motor, el cual implica cambios morfológicos y funcionales (conectividad de circuitos, fuerza sináptica y excitabilidad neuronal) en diferentes regiones corticales y subcorticales. Dentro de estos cambios se encuentran el aumento de la plasticidad mediante el incremento de la representación de las áreas implicadas en el movimiento en M1. Además de que neuronas piramidales de estas zonas muestran mayor densidad de espinas dendríticas durante las primeras fases del aprendizaje, también se reorganizan algunos circuitos de M1 para integrar información motriz y de retroalimentación sensorial (Fu et al., 2012; Makino et al., 2016; Papale & Hooks, 2018; Peters et al., 2014; Thoroughman & Shadmehr, 2000). Adicionalmente, se ha observado que el aprendizaje de habilidades motoras se lleva a cabo por medio de cambios en los diferentes circuitos, entre los que se puede encontrar cambios en la conectividad de los circuitos, su fuerza sináptica y su excitabilidad neuronal. Como ejemplo de estos cambios se observan aumentos en las entradas excitatorias cortico-corticales (corteza somatosensorial) y talamocorticales (tálamo motor), (Papale & Hooks, 2018). Estas modificaciones en las entradas tálamo-corticales pueden afectar el desempeño motor, afectando el tiempo para una adecuada ejecución del mismo (Fig. 7). Esto podría explicar la

ejecución del movimiento en nuestros resultados, ya que al comparar las primeras sesiones (Fig. 7a) con las últimas (Fig. 7b y c), donde se ve un refinamiento de la trayectoria, se muestra un menor tiempo de respuesta y una mayor velocidad de la misma. Este hecho indica que la práctica del comportamiento está conduciendo a una baja variabilidad del mismo y un movimiento refinado, lo cual puede ser explicado mediante la combinación de la exploración conductual (para la selección del comportamiento exitoso), una retroalimentación (resultados exitosos) y mecanismos de plasticidad hebbianos (generación de un circuito estable), factores que permiten reproducir de manera precisa y confiable un nuevo comportamiento motor (Makino et al., 2016).

Las fases con semi-restricción del movimiento tuvieron duraciones variables entre 12 a 18 días (Fase 3 y 4), ya que el ritmo de estas se ve influenciada por cada animal dependiendo de su temperamento, confianza con el experimentador, experiencias durante el entrenamiento, niveles de ansiedad, entre otras. Se ha visto que la técnica de restricción de la cabeza presenta algunas dificultades en aspectos como el tiempo que toma a los animales habituarse, además de que no les es posible a los animales desplegar muchas de las conductas naturales de su repertorio conductual. Pero la semi-restricción de la cabeza presenta también ciertas ventajas sobre estudios realizados con animales en libre movimiento, como lo es un mayor control experimental sobre las entradas sensoriales y las salidas motoras (Guo et al., 2014; Kimura et al., 2012; Schwarz et al., 2010), ya que permite tener un control sobre la presentación del estímulo y el seguimiento de la producción motora con precisión espacio temporal (Schwarz et al., 2010). La semi-restricción de la cabeza puede llegar a tener efectos no deseados como el estrés y la aversión por parte del animal, debido a que el animal se encuentra en una posición de vulnerabilidad y puede ser una situación amenazante, lo cual tendría un efecto adverso sobre el desempeño de la tarea (Kimura et al., 2012; Schwarz et al., 2010). Por ende, se analizaron los tiempos de reacción y el número de palanqueos ejecutados por los animales antes y posteriormente a su entrenamiento a la condición de la semi-restricción (Fig. 6). En este sentido, se observó que no existe una diferencia significativa en ninguno de los dos parámetros evaluados, indicando que la habituación de los animales utilizando el método de aproximaciones sucesivas permitió a los animales sentirse cómodos bajo esta condición de semi-restricción y tener un desempeño óptimo durante los registros. Esto indica que el comportamiento motor de la pata del animal no se está viendo afectado por la restricción del movimiento de la cabeza.

Las ratas entrenadas bajo semi-restricción mostraron un desempeño más bajo y curva de aprendizaje más lenta, individuos que comienzan su entrenamiento en P60. Factores como la edad y el estrés pueden ser la explicación a estas disparidades entre grupos, aunque no se muestran diferencias significativas con animales entrenados en la tarea en libre movimiento (Fig. 7). Schwarz y colaboradores (2010) señalan que las ratas de mayor edad aprenden de forma más lenta y son más difíciles de habitar a la semi-restricción, así mismo el estrés generado por la condición de semi-restricción de la cabeza puede estar influyendo en cómo aprenden las ratas y cuánto tiempo les toma aprender la tarea.

Por otra parte, la ejecución del palanqueo se desarrolló de manera adecuada en las ratas que fueron entrenadas en la tarea bajo la condición de semi-restricción (Fig. 7c), obteniendo

trayectorias similares a las ratas entrenadas en libre movimiento (Fig. 5). Como se puede observar en la Fig. 7a, las ratas entrenadas en la tarea de palanqueo en libre movimiento y posteriormente habituadas a la semi-restricción, presentan un desempeño mayor, mientras las entrenadas con semi-restricción directamente muestran una menor eficiencia, lo que indica mayores tasas de omisión (Fig. 7b). Asimismo, se observó que estos animales mostraron una curva de aprendizaje más lenta, que puede ser una prueba indirecta de que existían niveles de estrés en los animales y una aversión a la condición de semi-restricción, lo cual puede generar disminución en el desempeño de la tarea (Schwarz et al., 2010).

Las respuestas neuronales en la ejecución de un movimiento voluntario guiado por una señal sensorial, son altamente consistentes entre ensayos, pero pueden tener una amplia diversidad de patrones entre las diferentes neuronas, que incluyen el aumento, la disminución o respuestas multifásicas de la actividad a las diferentes fases del movimiento (Lemke et al., 2019; Sauerbrei et al., 2020; Scott, 2003), como las obtenidas a partir de nuestra clasificación (Fig. 11 a 16). Estas respuestas variadas podrían estar relacionadas con las diversas poblaciones de neuronas excitatorias e inhibitorias que contiene la corteza sensoriomotora, las cuales se encuentran segregadas por capas, y proyectan a objetivos específicos corticales y subcorticales (Sorensen et al., 2015). Esta posibilidad se ve reforzada por el hecho de que las neuronas de la corteza somatosensorial y motora además de diferir en su ubicación dentro de la columna cortical, muestran diversidad en su expresión genética, moleculares, electrofisiología y de conectividad u hodológica (Baker et al., 2018; Cauli et al., 1997; Ecónomo et al., 2018a; Oberlaender et al., 2011; Olivares-Moreno et al., 2017, 2019; Rojas-Piloni et al., 2017).

En particular, la diversidad funcional de las neuronas que proyectan subcorticalmente, puede estar relacionado con las características morfológicas y de conectividad (Baker et al., 2018; Groh et al., 2010; Oberlaender et al., 2011; Olivares-Moreno et al., 2019; Rojas-Piloni et al., 2017), creando así subpoblaciones segregadas con características específicas que presentan una asociación con fases específicas del movimiento. Ejemplo de esto, fue mostrado es el estudio realizado por Ecónomo y colaboradores (2018) donde establecieron una relación entre neuronas del tracto piramidal que proyectan al tálamo con la preparación motora, mientras neuronas con proyecciones a centros premotores de la médula oblongada se relacionaron con la ejecución del movimiento. Asimismo, Olivares-Moreno y colaboradores (2019) sugieren que las neuronas de las capas profundas de la corteza sensoriomotora que conforman el tracto piramidal, se encuentran organizadas en diferentes subsistemas funcionales que están modulando de forma coordinada diferentes circuitos subcorticales, que a su vez se encuentran involucrados en distintos aspectos del control motor.

En otros estudios encuentran una alta diversidad de neuronas en la capa V de la corteza sensoriomotora, las cuales presentan características morfológicas y electrofisiológicas, que están relacionadas con el tipo de objetivo al que proyectan. Las neuronas de la capa 5a, conocidas como de empenachadas delgadas proyectan intra-corticalmente al estriado ipsilateral, y a través del cuerpo calloso a las cortezas contralaterales (Hattox & Nelson, 2007; Kasper et al., 1994; Ramaswamy & Markram, 2015), las cuales muestran disparos regulares, no presentan disparos en ráfagas, poseen un alto grado de adaptación y umbrales de disparos más negativos. A diferencia de las células que componen la capa 5b conocidas como de

empenachadas gruesas, las cuales presentan disparos en ráfagas, y una adaptación corta, además de proyectar principalmente a colículos superiores, médula espinal, estriado y al puente (Baker et al., 2018; Cho, Segawa, Mizuno, et al., 2004; Hattox & Nelson, 2007; Kasper et al., 1994; Ramaswamy & Markram, 2015). La existencia de subgrupos funcionales que se correlacionan con la proyección a objetivos específicos refuerza la idea de la existencia de una jerarquía de los comandos motores dentro y fuera de la corteza, la cual orquesta y modula la ejecución de los movimientos.

Existen cambios en la actividad poblacional de la corteza somatosensorial que son generados cuando un animal aprende a ejecutar un movimiento voluntario en respuesta a un estímulo (Laubach et al., 2000). Sin embargo, también se ha demostrado que las neuronas de la corteza sensoriomotora codifican la información relevante de un comportamiento a través de distintos patrones de actividad neuronal, inactivándose o activándose antes y durante la ejecución de movimientos. En este sentido, las neuronas de la corteza sensoriomotora están participando en la planificación y ejecución de movimientos voluntarios, enviando patrones temporales de actividad a diferentes centros corticales y subcorticales (Sauerbrei et al., 2020; Sul et al., 2011). Con la finalidad de analizar con detalle si las neuronas corticales se relacionan con algunas de las variables involucradas dentro de la tarea, en este trabajo se realizaron análisis de regresión múltiple lineal utilizando como posibles variables explicativas del comportamiento de la actividad neuronal, la trayectoria de la palanca (movimiento de la extremidad) y el estímulo sensorial (Luz). Adicionalmente a esto, y con el fin de asociar con mayor precisión la actividad a una u otra variable se realizaron desfases (desplazamientos temporales) de la actividad neuronal con respecto a las variables explicativas (ver metodología). Este Análisis nos permitió clasificar la actividad neuronal en 3 grandes grupos: neuronas moduladas con el movimiento, neuronas moduladas con el estímulo sensorial o anticipatorias, y neuronas que no presentan una modulación clara con respecto a las variables evaluadas (Fig. 16). Esto contrasta con lo reportado en modelos semejantes, donde se ha mostrado una correlación temporal entre la actividad neuronal y las diferentes fases del movimiento voluntario, como son la preparación motora, la iniciación, la ejecución del movimiento y su terminación (Isomura et al., 2009; Laubach et al., 2000).

Dentro de las neuronas que se modularon con el movimiento se encuentran 3 subgrupos, las neuronas que aumentan su actividad antes y/o durante el movimiento (Fig. 11), neuronas que inhiben su actividad antes y/o durante el movimiento (Fig. 13) y neuronas que aumentan su actividad al regreso del palanqueo (Fig. 15). Con respecto al grupo que moduló su actividad con respecto al estímulo lumínico, se pueden clasificar 2 subgrupos, neuronas que aumentan su actividad (Fig. 12) y neuronas que inhiben su actividad con actividad anticipatoria (Fig. 14).

La actividad preparatoria debe cumplir tres criterios, el primero es que los cambios en la actividad neuronal deben surgir temporalmente anterior al inicio del movimiento, segundo esta actividad debe ser selectiva para el movimiento en específico y tercero la actividad neuronal debe predecir características del movimiento (Svoboda & Li, 2018a). Teniendo en cuenta esta descripción podemos decir que las neuronas que fueron clasificadas como moduladas o asociadas al estímulo lumínico (Fig. 12 y 14) pueden ser preparatorias, ya que su activación/inhibición es posterior al estímulo lumínico y anterior al inicio del movimiento, lo

cual se refleja en que sus valores  $\beta$  óptimos del modelo de regresión lineal múltiple, los cuales se encuentran en desfases negativos, y no mayores a los -300 ms (Perfiliev, 1998; Romo et al., 1993).

Varios estudios muestran que la corteza motora codifica diversas características del movimiento como la dirección, la velocidad, la distancia, la fuerza muscular, entre otros (Chen et al., 2017; Churchland et al., 2006, 2010; Scott, 2004), mostrando que la corteza motora posee una relación estrecha con la periferia, generando comandos motores y recibiendo retroalimentación diversa. Es así que la corteza motora es un área de convergencia y procesamiento de información que permite la salida de comandos motores a diversas estructuras que participan en el control motor (Scott, 2004). En la corteza motora se han descrito neuronas que muestran actividad perimovimiento relacionada con el inicio y ejecución (Svoboda & Li, 2018a), y neuronas que muestran actividad durante la expresión del movimiento, las cuales puede estar relacionadas con la ejecución o con la retroalimentación sensorial que modula la salida de comandos motores (Isomura et al., 2009; Moreno-López et al., 2016; Scott, 2004). Dentro de estas neuronas ejecutoras, es posible clasificar a los tres subgrupos de neuronas descritas en este trabajo y que se encuentran moduladas con el movimiento. Es así que la activación/inhibición es perimovimiento o durante este, lo cual se refleja en que sus valores  $\beta$  óptimos positivos/negativos, los cuales se encuentran en desfases positivos en su mayoría, que alcanzan hasta los 700 ms.

La retroalimentación sensorial se relaciona con las diferentes fases del movimiento, en la medida que la actividad de la corteza motora se ve modulada por información periférica ambiental y propioceptiva antes de que inicie el movimiento y a lo largo de su ejecución (Evarts & Fromm, 1977; Gandolfo et al., 2000; Scott, 2004), permitiendo la corrección de errores o perturbaciones durante el movimiento. Es importante mencionar que la corteza motora no solo está participando en la integración, almacenamiento y posterior selección de la información sensorial, sino que se involucra en la percepción de los estímulos más que sus características físicas (Fassih et al., 2017). Esto le permite al sistema motor mostrar una capacidad de adaptación y el uso de señales de retroalimentación como corrección y compensación de los comandos motores, al evaluar el rendimiento de la ejecución de los movimientos (Heindorf et al., 2018; Karadimas et al., 2019; Moreno-López et al., 2016; Scott, 2004).

La distribución de las diferentes clases funcionales de neuronas a lo largo del eje vertical (profundidad, Fig. 18a), no mostraron la existencia una relación capa a capa con las diferentes fases motoras secuenciales. Estudios realizados por Isomura y colaboradores (2009) sugieren que existe una secuencia de concurrencia de integración multicapa. Esto quiere decir que una fase motora secuencial ya sea, preparación, inicio, ejecución o terminación de un movimiento, está modulada por la actividad intracortical de neuronas en múltiples capas, y las cuales a su vez interactúan recíprocamente con otras áreas corticales y subcorticales. La superposición de neuronas asociadas a diversos estímulos en el eje medio lateral (Fig. 18b y c) se puede explicar debido a diversos factores dentro de los que se encuentran, la superposición (en roedores) de las áreas somatosensoriales de la pata anterior (S1FL) y motoras primarias (M1), las cuales no muestran márgenes definidos (Isomura et al., 2009) y la presencia de actividad preparatoria en M1 (Fig. 18 b y c) (Svoboda & Li, 2018b).

En resumen, dentro de nuestro análisis obtuvimos una proporción muy similar de neuronas moduladas con el estímulo lumínico (23 neuronas) y neuronas moduladas por el movimiento (28 neuronas); las primeras con características de actividad preparatoria, las últimas con características de neuronas ejecutoras o de carácter de retroalimentación sensorial. Estos grupos muestran una separación clara por los desfases obtenidos con respecto al estímulo lumínico y al movimiento (Fig. 17).

Por último, se registró la actividad de un grupo de 19 neuronas que no se encontraron con una asociación explícitamente representativa de las variables de la tarea. Cabe resaltar que estudios recientes muestran que algunas de las señales neuronales no son explícitamente una representación de la tarea, sino que pueden ser epifenómenos de la misma (Sauerbrei et al., 2020; Scott, 2004). Existen datos neuronales que son difíciles de interpretar desde un marco puramente representativo, pero que a la luz del concepto de sistema dinámico pueden ser accesibles. Siendo esta la solución a varios interrogantes sobre la actividad neuronal no relacionada con las características del movimiento. Las dificultades vienen cuando se comprende que el sistema dinámico debe ser analizado e interpretado a nivel poblacional y no de célula individual. La actividad poblacional como tal puede llegar a ser conformada por una red de millones de neuronas con señales de diferentes partes del cerebro, por ende, unas de las mejores opciones son: el registro con canales múltiples, imágenes de calcio, registro de potenciales de campo, entre otros (Shenoy et al., 2013), siendo estos los que han proporcionado una descripción más rica y robusta de la dinámica neuronal (Svoboda & Li, 2018a).

Finalmente, en el desarrollo del presente trabajo se definió una metodología de análisis que permite la clasificación subjetiva de la actividad neuronal con relación a diferentes variables dentro de una tarea sensoriomotora, la cual es respaldada por un análisis de agrupamientos como es el K-means. Encontramos que existen neuronas que participan activamente durante las distintas fases del movimiento, permitiendo una clara división entre neuronas moduladas anticipatorias o moduladas por el movimiento. A partir de nuestro análisis es posible definir pautas que guían de forma objetiva la separación en diferentes subgrupos funcionales las diferentes respuestas neuronales a una tarea específica.

El presente trabajo y estudios recientes han demostrado que, dentro de la corteza sensoriomotora, existen correlaciones entre las señales neuronales individuales y algunos de los parámetros sensoriales y/o motores dentro de una tarea. Sin embargo, los resultados han evidenciado que estas correlaciones no son suficientes para explicar el comportamiento de la actividad neuronal en su totalidad, además de mostrar que muchas de estas correlaciones no pueden ser generalizadas a diferentes tareas (Churchland et al., 2006; Shenoy et al., 2013; Svoboda & Li, 2018b). El uso de metodologías de análisis como la planteada dentro de este trabajo, pueden ser útiles en la comprensión de la actividad neuronal poblacional más que de neuronas individuales. El análisis poblacional puede permitir identificar el papel que cumplen los diferentes subgrupos de neuronas funcionalmente segregadas durante el movimiento. La identificación de los diferentes subgrupos funcionales y sus proyecciones permitiría interpretar cuál es su posición dentro de la jerarquía dentro de los comandos motores y como se lleva a

cabo la integración de información y la posterior coordinación y modulación de la ejecución de los movimientos.

## ***Conclusiones***

- Mediante un método analítico basado en el modelo de regresión lineal múltiple es posible realizar una clasificación objetiva de la actividad neuronal, con respecto a un estímulo sensorial o anticipatorias y a la ejecución de un movimiento.
- Existe una proporción similar de neuronas moduladas por el estímulo sensorial (lumínico) o actividad preparatoria y el movimiento.
- Las neuronas clasificadas dentro de la fase del movimiento, podrían estar involucradas con el inicio y ejecución de los movimientos, o bien con la retroalimentación sensorial que modula la salida de comandos motores.
- Las neuronas clasificadas como anticipatorias catalogadas en relación al estímulo lumínico pueden considerarse como preparatorias.
- La existencia de subgrupos funcionales asociados a las fases de preparación y ejecución de un movimiento, refuerza la idea de la existencia de una jerarquía dentro de los comandos motores que orquestan y modulan la ejecución de los movimientos.

## **Bibliografía**

- Abernethy, B., Kippers, V., Hanrahan, S. J., Pandy, M. G., McManus, A. M., & Mackinnon, L. (2013). *Biophysical foundations of human movement*. Human Kinetics.
- Amaral, G., & Peter, S. (2013). The Organization of the central nervous system. In *Principles of neuroscience* (5ta editio, pp. 337–356). Mc Graw Hill.
- Amat-Rodrigo, J. (2016). *Introducción a la Regresión Lineal Múltiple*. [https://www.cienciadedatos.net/documentos/25\\_regresion\\_lineal\\_multiple](https://www.cienciadedatos.net/documentos/25_regresion_lineal_multiple)
- Baker, A., Kalmbach, B., Morishima, M., Kim, J., Juavinett, A., Li, N., & Dembrow, N. (2018). Specialized subpopulations of deep-layer pyramidal neurons in the neocortex: Bridging cellular properties to functional consequences. *Journal of Neuroscience*, *38*(24), 5441–5455. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0150-18.2018>
- Borde, M., Curti, S., Comas, V., & Rivero, C. (2004). Modulación central de un sistema sensorial por un comando motor. Una intención con dos resultados. *Revista de Neurología*, *38*(3), 253–260. <https://doi.org/10.33588/rn.3803.2004006>
- Brecht, M., Krauss, A., Muhammad, S., Sinai-Esfahani, L., Bellanca, S., & Margrie, T. W. (2004). Organization of rat vibrissa motor cortex and adjacent areas according to cytoarchitectonics, microstimulation, and intracellular stimulation of identified cells. *Journal of Comparative Neurology*, *479*(4), 360–373. <https://doi.org/10.1002/cne.20306>
- Canavan, A. G. M., Nixon, P. D., & Passingham, R. E. (1989). Motor learning in monkeys (*Macaca fascicularis*) with lesions in motor thalamus. *Experimental Brain Research*, *77*(1), 113–126. <https://doi.org/10.1007/BF00250573>
- Canedo, A. (1997). Primary motor cortex influences on the descending and ascending systems. *Progress in Neurobiology*, *51*(3), 287–335. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(96\)00058-5](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(96)00058-5)
- Cauli, B., Audinat, E., Lambollez, B., Angulo, M. C., Ropert, N., Tsuzuki, K., Hestrin, S., & Rossier, J. (1997). Molecular and physiological diversity of cortical nonpyramidal cells. *Journal of Neuroscience*, *17*(10), 3894–3906. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-10-03894.1997>
- Chen, T. W., Li, N., Daie, K., & Svoboda, K. (2017). A Map of Anticipatory Activity in Mouse Motor Cortex. *Neuron*, *94*(4), 866–879.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.05.005>
- Cho, R., Segawa, S., Mizuno, A., & Kaneko, T. (2004). Intracellularly labeled pyramidal neurons in the cortical areas projecting to the spinal cord: I. Electrophysiological properties of pyramidal neurons. *Neuroscience Research*, *50*(4), 381–394. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2004.08.006>
- Cho, R., Segawa, S., Okamoto, K., Mizuno, A., & Kaneko, T. (2004). Intracellularly labeled pyramidal neurons in the cortical areas projecting to the spinal cord: II. Intra- and juxta-columnar projection of pyramidal neurons to corticospinal neurons. *Neuroscience Research*, *50*(4), 395–410. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2004.08.007>
- Churchland, M. M., Cunningham, J. P., Kaufman, M. T., Ryu, S. I., & Shenoy, K. V. (2010). Cortical Preparatory Activity: Representation of Movement or First Cog in a Dynamical Machine? *Neuron*, *68*(3), 387–400. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.09.015>
- Churchland, M. M., Santhanam, G., & Shenoy, K. V. (2006). Preparatory activity in premotor and motor cortex reflects the speed of the upcoming reach. *Journal of Neurophysiology*, *96*(6), 3130–3146. <https://doi.org/10.1152/jn.00307.2006>

- Churchland, M. M., & Shenoy, K. V. (2007). Delay of Movement Caused by Disruption of Cortical Preparatory Activity. *Journal of Neurophysiology*, 97(1), 348–359. <https://doi.org/10.1152/jn.00808.2006>
- Donoghue, J. P., & Wise, S. P. (1982). *The Motor Cortex of the Rat: Cytoarchitecture and Microstimulation Mapping*. 88, 76–88.
- Economo, M. N., Viswanathan, S., Tasic, B., Bas, E., Winnubst, J., Menon, V., Graybiel, L. T., Nguyen, T. N., Smith, K. A., Yao, Z., Wang, L., Gerfen, C. R., Chandrashekar, J., Zeng, H., Looger, L. L., & Svoboda, K. (2018a). Distinct descending motor cortex pathways and their roles in movement. *Nature*, 563(7729), 79–84. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0642-9>
- Economo, M. N., Viswanathan, S., Tasic, B., Bas, E., Winnubst, J., Menon, V., Graybiel, L. T., Nguyen, T. N., Smith, K. A., Yao, Z., Wang, L., Gerfen, C. R., Chandrashekar, J., Zeng, H., Looger, L. L., & Svoboda, K. (2018b). Distinct descending motor cortex pathways and their roles in movement. *Nature*, 563(7729), 79–84. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0642-9>
- Elsayed, G. F., Lara, A. H., Kaufman, M. T., Churchland, M. M., & Cunningham, J. P. (2016). Reorganization between preparatory and movement population responses in motor cortex. *Nature Communications*, 7(1), 13239. <https://doi.org/10.1038/ncomms13239>
- Evarts, E. V., & Fromm, C. (1977). Sensory responses in motor cortex neurons during precise motor control. *Neuroscience Letters*, 5(5), 267–272. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(77\)90077-5](https://doi.org/10.1016/0304-3940(77)90077-5)
- Fassihi, A., Akrami, A., Pulecchi, F., Schönfelder, V., & Diamond, M. E. (2017). Transformation of Perception from Sensory to Motor Cortex. *Current Biology*, 27(11), 1585-1596.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.011>
- Fu, M., Yu, X., Lu, J., & Zuo, Y. (2012). Repetitive motor learning induces coordinated formation of clustered dendritic spines in vivo. *Nature*, 483(7387), 92–96. <https://doi.org/10.1038/nature10844>
- Gandolfo, F., Li, C. S. R., Benda, B. J., Padoa-Schioppa, C., & Bizzi, E. (2000). Cortical correlates of learning in monkeys adapting to a new dynamical environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(5), 2259–2263. <https://doi.org/10.1073/pnas.040567097>
- Granados, R. M. (2016). Modelos de regresión lineal múltiple. In *Documentos de Trabajo en Economía Aplicada*. Universidad de Granada.
- Groh, A., Meyer, H. S., Schmidt, E. F., Heintz, N., Sakmann, B., & Krieger, P. (2010). Cell-Type Specific Properties of Pyramidal Neurons in Neocortex Underlying a Layout that Is Modifiable Depending on the Cortical Area. *Cerebral Cortex*, 20, 826–836. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp152>
- Guo, Z. V., Hires, S. A., Li, N., O'Connor, D. H., Komiyama, T., Ophir, E., Huber, D., Bonardi, C., Morandell, K., Gutnisky, D., Peron, S., Xu, N. L., Cox, J., & Svoboda, K. (2014). Procedures for behavioral experiments in head-fixed mice. *PLoS ONE*, 9(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088678>
- Hattox, A. M., & Nelson, S. B. (2007). Layer V neurons in mouse cortex projecting to different targets have distinct physiological properties. *Journal of Neurophysiology*, 98(6), 3330–3340. <https://doi.org/10.1152/jn.00397.2007>
- Heindorf, M., Arber, S., & Keller, G. B. (2018). Mouse Motor Cortex Coordinates the Behavioral Response to Unpredicted Sensory Feedback. *Neuron*, 99(5), 1040-1054.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.046>

- Huang, Z. (1998). Extensions to the k-Means Algorithm for Clustering Large Data Sets with Categorical Values. In *Data Mining and Knowledge Discovery* (Vol. 12).
- Isomura, Y., Harukuni, R., Takekawa, T., Aizawa, H., & Fukai, T. (2009). Microcircuitry coordination of cortical motor information in self-initiation of voluntary movements. *Nature Neuroscience*, *12*(12), 1586–1593. <https://doi.org/10.1038/nn.2431>
- Jaume, M. J., & Morar-Catalá, R. (2001). *Estadística Informática: casos y ejemplos con el SPSS Capítulo 4 Análisis de Regresión Múltiple*.
- Karadimas, S. K., Satkunendrarajah, K., Laliberte, A. M., Ringuette, D., Weisspapir, I., Li, L., Gosgnach, S., & Fehlings, M. G. (2019). Sensory cortical control of movement. *Nature Neuroscience*, *23*(January). <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0536-7>
- Kasper, E. M., Larkman, A. U., Lübke, J., & Blakemore, C. (1994). Pyramidal neurons in layer 5 of the rat visual cortex. II. Development of electrophysiological properties. *Journal of Comparative Neurology*, *339*(4), 475–494. <https://doi.org/10.1002/cne.903390403>
- Kimura, R., Saiki, A., Fujiwara-Tsukamoto, Y., Ohkubo, F., Kitamura, K., Matsuzaki, M., Sakai, Y., & Isomura, Y. (2012). Reinforcing operandum: Rapid and reliable learning of skilled forelimb movements by head-fixed rodents. *Journal of Neurophysiology*, *108*(6), 1781–1792. <https://doi.org/10.1152/jn.00356.2012>
- Laubach, M., Wessberg, J., & Nicolelis, M. A. L. (2000). Cortical ensemble activity increasingly predicts behaviour outcomes during learning of a motor task. *Nature*, *405*(6786), 567–571. <https://doi.org/10.1038/35014604>
- Lefort, S., Tomm, C., Floyd Sarria, J.-C., & Petersen, C. C. H. (2009). Article The Excitatory Neuronal Network of the C2 Barrel Column in Mouse Primary Somatosensory Cortex. *Neuron*, *61*, 301–316. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.12.020>
- Lemke, S. M., Ramanathan, D. S., Guo, L., Won, S. J., & Ganguly, K. (2019). Emergent modular neural control drives coordinated motor actions. *Nature Neuroscience*, *22*(7), 1122–1131. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0407-2>
- Lemon, R. N. (2008). Descending Pathways in Motor Control. *Annual Review of Neuroscience*, *31*(1), 195–218. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.31.060407.125547>
- Li, N., Chen, T. W., Guo, Z. V., Gerfen, C. R., & Svoboda, K. (2015). A motor cortex circuit for motor planning and movement. *Nature*, *519*(7541), 51–56. <https://doi.org/10.1038/nature14178>
- Luft, A. R., & Buitrago, M. M. (2005). Stages of motor skill learning. *Molecular Neurobiology*, *32*(3), 205–216. <https://doi.org/10.1385/MN:32:3:205>
- Madhav, M. S., & Cowan, N. J. (2020). The Synergy Between Neuroscience and Control Theory: The Nervous System as Inspiration for Hard Control Challenges. *Robotics, and Autonomous Systems*, *7*(4). <https://doi.org/10.1146/annurev-control-060117>
- Makino, H., Hwang, E. J., Hedrick, N. G., & Komiyama, T. (2016). Circuit Mechanisms of Sensorimotor Learning. In *Neuron* (Vol. 92, Issue 4, pp. 705–721). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.10.029>
- Moreno-López, Y., Olivares-Moreno, R., Cordero-Erausquin, M., & Rojas-Piloni, G. (2016). Sensorimotor integration by corticospinal system. *Frontiers in Neuroanatomy*, *10*(MAR), 1–6.

<https://doi.org/10.3389/fnana.2016.00024>

- Naka, A., Adesnik, H., Agmon, A., & Luhmann, H. J. (2016). *Inhibitory Circuits in Cortical Layer 5*. *10*, 35. <https://doi.org/10.3389/fncir.2016.00035>
- Narayanan, R. T., Udvary, D., & Oberlaender, M. (2017). Cell type-specific structural organization of the six layers in rat barrel cortex. In *Frontiers in Neuroanatomy* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnana.2017.00091>
- Ninomiya, T., Inoue, K. ichi, Hoshi, E., & Takada, M. (2019). Layer specificity of inputs from supplementary motor area and dorsal premotor cortex to primary motor cortex in macaque monkeys. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54220-z>
- Nudo, R. J., & Frost, S. B. (2007). The evolution of motor cortex and motor systems. *Evolution of Nervous Systems*, *3*, 373–395. <https://doi.org/10.1016/B0-12-370878-8/00082-3>
- Oberlaender, M., De Kock, C. P. J., Bruno, R. M., Ramirez, A., Meyer, H. S., Dercksen, V. J., Helmstaedter, M., & Sakmann, B. (2011). Cell Type-Specific Three-Dimensional Structure of Thalamocortical Circuits in a Column of Rat Vibrissal Cortex. *Oxford University Press*, *22*(10), 2375–2391. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhr317>
- Olivares-Moreno, R., López-Hidalgo, M., Altamirano-Espinoza, A., González-Gallardo, A., Antaramian, A., Lopez-Virgen, V., & Rojas-Piloni, G. (2019). Mouse corticospinal system comprises different functional neuronal ensembles depending on their hodology. *BMC Neuroscience*, *20*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12868-019-0533-5>
- Olivares-Moreno, R., Moreno-Lopez, Y., Concha, L., Martínez-Lorenzana, G., Condés-Lara, M., Cordero-Erausquin, M., & Rojas-Piloni, G. (2017). The rat corticospinal system is functionally and anatomically segregated. *Brain Structure and Function*, *222*(9), 3945–3958. <https://doi.org/10.1007/s00429-017-1447-6>
- Papale, A. E., & Hooks, B. M. (2018). Circuit changes in motor cortex during motor skill learning. In *Neuroscience* (Vol. 368, pp. 283–297). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.09.010>
- Perfiliev, S. N. (1998). Responses in the motor cortex time-locked to the sensory stimuli conditioning target-reaching in the cat. *Neuroscience Research*, *32*(3), 273–279. [https://doi.org/10.1016/S0168-0102\(98\)00085-6](https://doi.org/10.1016/S0168-0102(98)00085-6)
- Peters, A. J., Chen, S. X., & Komiyama, T. (2014). Emergence of reproducible spatiotemporal activity during motor learning. *Nature*, *510*(7504), 263–267. <https://doi.org/10.1038/nature13235>
- Petrides, M. (1982). Motor conditional associative-learning after selective prefrontal lesions in the monkey. *Behavioural Brain Research*, *5*(4), 407–413. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(82\)90044-4](https://doi.org/10.1016/0166-4328(82)90044-4)
- Ramaswamy, S., & Markram, H. (2015). Anatomy and physiology of the thick-tufted layer 5 pyramidal neuron. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *9*(JUNE), 1–29. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00233>
- Rojas-Piloni, G., Guest, J. M., Egger, R., Johnson, A. S., Sakmann, B., & Oberlaender, M. (2017). Relationships between structure, in vivo function and long-range axonal target of cortical pyramidal tract neurons. *Nature Communications*, *8*(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00971-0>
- Romo, R., Ruiz, S., Crespo, P., Zainos, A., & Merchant, H. (1993). Representation of Tactile Signals in

- Primate Supplementary Motor Area. In *JOURNAL OF NEUROPHYSIOLOGY* (Vol. 70, Issue 6).
- Rudomin, P., & Schmidt, R. F. (1999). Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Experimental Brain Research*, *129*(1), 1–37. <https://doi.org/10.1007/s002210050933>
- Santana-Chávez, G., Rodríguez-Moreno, P., López-Hidalgo, M., Olivares-Moreno, R., Moreno-López, Y., & Rojas-Piloni, G. (2020). Operant conditioning paradigm for juxtacellular recordings in functionally identified cortical neurons during motor execution in head-fixed rats. *Journal of Neuroscience Methods*, *329*, 108454. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2019.108454>
- Sauerbrei, B. A., Guo, J. Z., Cohen, J. D., Mischiati, M., Guo, W., Kabra, M., Verma, N., Mensh, B., Branson, K., & Hantman, A. W. (2020). Cortical pattern generation during dexterous movement is input-driven. *Nature*, *577*(7790), 386–391. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1869-9>
- Schwarz, C., Hentschke, H., Butovas, S., Haiss, F., Stüttgen, M. C., Gerdjikov, T. V., Bergner, C. G., & Waiblinger, C. (2010). The head-fixed behaving rat - Procedures and pitfalls. *Somatosensory and Motor Research*, *27*(4), 131–148. <https://doi.org/10.3109/08990220.2010.513111>
- Scott, S. H. (2003). The role of primary motor cortex in goal-directed movements: Insights from neurophysiological studies on non-human primates. *Current Opinion in Neurobiology*, *13*(6), 671–677. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2003.10.012>
- Scott, S. H. (2004). Optimal feedback control and the neural basis of volitional motor control. In *Nature Reviews Neuroscience* (Vol. 5, Issue 7, pp. 532–544). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrn1427>
- Scott, S. H. (2016). A Functional Taxonomy of Bottom-Up Sensory Feedback Processing for Motor Actions. *Trends in Neurosciences*, *39*(8), 512–526. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.06.001>
- Seki, K., Perlmutter, S. I., & Fetz, E. E. (2003). Sensory input to primate spinal cord is presynaptically inhibited during voluntary movement. *Nature Neuroscience*, *6*(12), 1309–1316. <https://doi.org/10.1038/nn1154>
- Shenoy, K. V., Sahani, M., & Churchland, M. M. (2013). Cortical Control of Arm Movements: A Dynamical Systems Perspective. *Annual Review of Neuroscience*, *36*(1), 337–359. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150509>
- Shi, N., Liu, X., & Guan, Y. (2010). Research on k-means clustering algorithm: An improved k-means clustering algorithm. *3rd International Symposium on Intelligent Information Technology and Security Informatics, IITSI 2010*, 63–67. <https://doi.org/10.1109/IITSI.2010.74>
- Sorensen, S. A., Bernard, A., Menon, V., Royall, J. J., Glattfelder, K. J., Desta, T., Hirokawa, K., Mortrud, M., Miller, J. A., Zeng, H., Hohmann, J. G., Jones, A. R., & Lein, E. S. (2015). Correlated gene expression and target specificity demonstrate excitatory projection neuron diversity. *Cerebral Cortex*, *25*(2), 433–449. <https://doi.org/10.1093/cercor/bht243>
- Soriano Mas, C., Guillazo Blanch, G., Redolarm Ripoll, A., Torras García, M., & Vale Martínez, A. (2007). *Fundamentos de neurociencia* (Primera). Editorial UOC.
- Sul, J. H., Jo, S., Lee, D., & Jung, M. W. (2011). Role of rodent secondary motor cortex in value-based action selection. *Nature Neuroscience*, *14*(9), 1202–1210. <https://doi.org/10.1038/nn.2881>
- Svoboda, K., & Li, N. (2018a). Neural mechanisms of movement planning: motor cortex and beyond. *Current Opinion in Neurobiology*, *49*, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.10.023>
- Svoboda, K., & Li, N. (2018b). Neural mechanisms of movement planning: motor cortex and beyond. In

*Current Opinion in Neurobiology* (Vol. 49, pp. 33–41). Elsevier Ltd.  
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.10.023>

Thoroughman, K. A., & Shadmehr, R. (2000). Learning of action through adaptive combination of motor primitives. *Nature*, *407*(6805), 742–747. <https://doi.org/10.1038/35037588>

Wallisch, P., Lusignan, M. E., Benayoun, M. D., Baker, T. I., Dickey, A. S., & Hatsopoulos, N. G. (2013). MATLAB® for neuroscientists: An introduction to scientific computing in MATLAB: Second edition. In *MATLAB® for Neuroscientists: An Introduction to Scientific Computing in MATLAB: Second Edition*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-64117-9>

Weiler, N., Wood, L., Yu, J., Solla, S. A., & Shepherd, G. M. G. (2008). Top-down laminar organization of the excitatory network in motor cortex. *Nature Neuroscience*, *11*(3), 360–366. <https://doi.org/10.1038/nn2049>

## Anexos

Neurona	Profundidad ( $\mu\text{m}$ )	Clasificación	N. ensayos
1	507.2098595	Anticipatoria	19
2	619.9231616	Motor	13
3	681.8230898	Anticipatoria	14
4	681.8230898	Motor	14
5	801.9274281	Anticipatoria	53
6	801.9274281	Anticipatoria	17
7	839.8064887	Motor	21
8	839.8064887	Anticipatoria	15
9	849.9691635	Motor	9
10	874.9139107	Motor	9
11	886.000465	E. inhibitorio	8
12	896.1631397	Regreso	16
13	896.1631397	Regreso	22
14	922.0317665	Sin Clasificación	9
15	925.7272846	Motor	6
16	936.8138389	Anticipatoria	29
17	949.7481522	Sin Clasificación	10
18	949.7481522	Sin Clasificación	10
19	966.3779837	Sin Clasificación	12
20	966.3779837	Sin Clasificación	14
21	978.3884175	Sin Clasificación	12
22	982.0839356	Sin Clasificación	11
23	984.8555742	Anticipatoria	11
24	1022.734635	Motor	40
25	1022.734635	Anticipatoria	16
26	1028.277912	Anticipatoria	13
27	1046.755502	Sin Clasificación	7
28	1101.264394	Anticipatoria	11
29	1133.600178	Motor	6
30	1133.600178	Motor	6
31	1146.534491	Anticipatoria	11
32	1182.565793	Motor	20
33	1197.347865	Sin Clasificación	6
34	1197.347865	Sin Clasificación	6
35	1198.271745	M. inhibitorio	6
36	1200.119504	Sin Clasificación	25
37	1200.119504	Motor	25
38	1223.216492	Motor	12
39	1223.216492	Motor	8
40	1223.216492	Sin Clasificación	20

41	1264.79107	Motor	16
42	1274.029866	Sin Clasificación	8
43	1274.029866	Sin Clasificación	16
44	1301.746251	Sin Clasificación	20
45	1301.746251	Sin Clasificación	14
46	1301.746251	M. inhibitorio	20
47	1335.929794	Motor	8
48	1350.711866	Motor	12
49	1376.580493	Motor	7
50	1417.231192	Motor	12
51	1417.231192	Motor	19
52	1432.937144	Motor	16
53	1467.120687	Motor	18
54	1481.902759	Anticipatoria	18
55	1530.868374	Motor	11
56	1536.411651	Motor	14
57	1579.833989	Anticipatoria	7
58	1579.833989	Anticipatoria	17
59	1581.681748	Anticipatoria	15
60	1581.681748	Sin Clasificación	8
61	1589.072784	E. inhibitorio	19
62	1654.66823	Sin Clasificación	13
63	1654.66823	Sin Clasificación	18
64	1687.004014	E. inhibitorio	14
65	1750.751701	Anticipatoria	15
66	1759.990496	Anticipatoria	11
67	1842.215774	Anticipatoria	17
68	1845.911292	Anticipatoria	12
69	1878.247075	Regreso	6
70	1878.247075	Regreso	6
71	1914.278377	Anticipatoria	17

Tabla 2. Datos compilados para las 71 neuronas analizadas. Clasificación, profundidad de registro, clasificación y número de ensayos correctos que se utilizaron en el análisis de regresión múltiple lineal.

Neurona	$\beta$ óptimo (Luz)	p-valor	Desfasamiento óptimo (luz)	R2	Fisher (anova)	p-valor (anova)
1	0.003	0.00E+00	-175	0.063	2531.901	0.00E+00
2	0.003	1.67E-271	-475	0.030	800.425	0.00E+00
3	0.006	0.00E+00	-150	0.101	3128.378	0.00E+00
4	0.015	0.00E+00	-625	0.175	5874.148	0.00E+00
5	0.001	0.00E+00	-250	0.016	1694.582	0.00E+00
6	0.003	0.00E+00	-175	0.025	873.296	0.00E+00

7	0.001	0.00E+00	-450	0.055	2433.216	0.00E+00
8	0.005	0.00E+00	-250	0.105	3496.953	0.00E+00
9	0.006	9.76e-320	-550	0.050	925.311	0.00E+00
10	0.004	4.72E-66	-100	0.011	193.161	3.63E-84
11	0.004	3.73E-159	625	0.022	395.008	2.18E-170
12	0.002	0.00E+00	-700	0.042	1463.009	0.00E+00
13	0.005	0.00E+00	-700	0.055	2648.045	0.00E+00
14	0.004	1.22E-92	0	0.130	2693.917	0.00E+00
15	0.012	0.00E+00	-300	0.117	1564.533	0.00E+00
16	0.006	0.00E+00	-200	0.023	1357.073	0.00E+00
17	0.004	5.02E-239	475	0.027	557.719	1.38E-239
18	0.003	3.34E-215	50	0.033	680.733	1.94E-291
19	0.001	7.50E-20	-650	0.003	64.856	7.51E-29
20	0.002	8.65E-134	100	0.011	313.952	2.59E-136
21	0.001	3.31E-04	-550	0.003	77.633	2.19E-34
22	0.006	0.00E+00	650	0.040	976.580	0.00E+00
23	0.006	1.10E-221	-225	0.037	848.710	0.00E+00
24	0.001	0.00E+00	-700	0.023	1813.839	0.00E+00
25	0.007	0.00E+00	-575	0.035	1093.386	0.00E+00
26	0.006	0.00E+00	-175	0.040	1089.652	0.00E+00
27	0.001	3.21E-17	50	0.003	37.002	9.01E-17
28	0.009	0.00E+00	-300	0.175	4633.481	0.00E+00
29	0.005	0.00E+00	-550	0.080	1189.666	0.00E+00
30	0.008	0.00E+00	-550	0.078	1162.572	0.00E+00
31	0.010	0.00E+00	-200	0.082	1946.695	0.00E+00
32	0.002	2.15E-153	-700	0.009	359.929	2.27E-156
33	0.003	1.35E-204	450	0.041	509.058	3.67E-217
34	0.003	4.97E-48	-100	0.021	257.348	2.64E-111
35	0.003	5.27E-11	425	0.060	755.071	1.42e-318
36	0.001	1.94E-307	-675	0.014	718.721	1.26e-310
37	0.004	0.00E+00	-450	0.037	1923.601	0.00E+00
38	0.004	1.52E-111	-450	0.031	758.017	0.00E+00
39	0.004	1.89E-182	-500	0.038	620.637	4.33E-265
40	0.002	1.62E-111	-575	0.012	446.467	1.74E-193
41	0.003	0.00E+00	-600	0.046	1632.366	0.00E+00
42	0.002	1.95E-214	-600	0.046	762.781	0.00E+00
43	0.002	1.77E-143	100	0.027	872.674	0.00E+00
44	0.002	0.00E+00	-475	0.057	2397.289	0.00E+00
45	0.003	8.88E-242	-450	0.027	775.328	0.00E+00
46	0.004	1.53e-317	-525	0.021	859.370	0.00E+00
47	0.002	1.97E-177	-700	0.034	554.042	3.50E-237
48	0.015	0.00E+00	-700	0.081	2085.908	0.00E+00
49	0.005	5.42E-144	-700	0.021	330.552	8.68E-143

50	0.012	0.00E+00	-325	0.045	1130.189	0.00E+00
51	0.022	0.00E+00	-625	0.152	6382.823	0.00E+00
52	0.010	0.00E+00	-650	0.180	6515.960	0.00E+00
53	0.010	0.00E+00	-450	0.134	5556.201	0.00E+00
54	0.007	0.00E+00	-300	0.065	2479.921	0.00E+00
55	0.009	0.00E+00	-475	0.054	1246.743	0.00E+00
56	0.007	3.17E-316	-325	0.071	2276.789	0.00E+00
57	0.009	3.49E-136	0	0.022	318.614	1.51E-137
58	0.007	0.00E+00	-225	0.032	1130.910	0.00E+00
59	0.005	4.46E-258	-350	0.023	698.137	1.98E-300
60	0.006	3.37E-127	375	0.019	302.235	9.54E-131
61	0.001	1.94E-77	-700	0.005	189.038	1.31E-82
62	0.005	3.12E-147	125	0.032	848.669	0.00E+00
63	0.005	2.14E-128	600	0.032	1123.533	0.00E+00
64	0.001	2.09E-11	525	0.008	230.436	2.04E-100
65	0.009	0.00E+00	-300	0.281	11690.303	0.00E+00
66	0.011	0.00E+00	-125	0.121	3021.821	0.00E+00
67	0.009	0.00E+00	-275	0.281	13208.872	0.00E+00
68	0.009	2.104e-312	-125	0.034	842.739	0.00E+00
69	0.000	2.22E-01	-650	0.145	1988.616	0.00E+00
70	0.007	1.85E-153	-700	0.062	772.702	0.00E+00
71	0.011	0.00E+00	-400	0.096	3.37E+03	0.00E+00

Tabla 3. Datos compilados para las 71 neuronas analizadas. B óptimo para el estímulo lumínico con su respectivo desfaseamiento y prueba anova para el modelo óptimo.

Neurona	$\beta$ óptimo (movimiento)	p-valor	Desfaseamiento óptimo (movimiento)	R2	Fisher (anova)	p-valor (anova)
1	0.001	0.00E+00	225	0.024	924.391	0.00E+00
2	0.002	0.00E+00	100	0.044	1204.344	0.00E+00
3	0.005	0.00E+00	650	0.185	6298.153	0.00E+00
4	0.011	0.00E+00	475	0.219	7781.087	0.00E+00
5	0.001	0.00E+00	650	0.016	1677.241	0.00E+00
6	0.002	0.00E+00	700	0.034	1175.872	0.00E+00
7	0.000	1.51E-171	700	0.011	462.975	1.10E-200
8	0.001	7.98E-304	475	0.025	772.218	0.00E+00
9	0.004	1.17E-172	50	0.039	738.273	6.05e-315
10	0.013	0.00E+00	425	0.137	2818.517	0.00E+00
11	0.001	1.14E-39	700	0.015	261.187	2.51E-113
12	0.002	1.99E-289	-700	0.042	1463.009	0.00E+00
13	0.008	0.00E+00	-475	0.054	2630.258	0.00E+00
14	-0.004	2.20E-163	700	0.034	616.913	4.51E-264
15	0.007	0.00E+00	375	0.097	1264.417	0.00E+00

16	0.002	3.44E-199	450	0.008	489.091	3.05E-212
17	0.001	3.86E-47	575	0.016	327.873	6.00E-142
18	0.000	4.87E-03	-700	0.000	8.954	1.29E-04
19	0.000	2.37E-01	-350	0.002	35.756	3.05E-16
20	0.001	3.22E-18	50	0.009	258.221	2.35E-112
21	0.002	1.18E-66	-700	0.007	163.083	2.61E-71
22	0.003	2.87E-155	700	0.041	999.539	0.00E+00
23	0.001	3.76E-08	375	0.002	36.161	2.03E-16
24	0.001	0.00E+00	325	0.035	2817.073	0.00E+00
25	0.003	3.70E-201	700	0.023	695.126	3.94E-299
26	0.003	1.08e-316	625	0.044	1185.047	0.00E+00
27	0.001	2.55E-13	700	0.002	28.780	3.28E-13
28	0.003	0.00E+00	225	0.065	1530.795	0.00E+00
29	0.005	0.00E+00	150	0.103	1602.021	0.00E+00
30	0.008	0.00E+00	150	0.088	1352.176	0.00E+00
31	0.006	0.00E+00	550	0.087	2060.500	0.00E+00
32	0.001	1.22E-152	175	0.012	490.457	1.71E-212
33	0.002	2.17E-76	-25	0.024	299.614	3.01E-129
34	0.005	1.31E-119	-700	0.024	286.558	1.14E-123
35	-0.006	2.66E-95	700	0.020	234.662	1.26E-101
36	0.000	1.11E-113	700	0.008	407.944	3.60E-177
37	0.001	2.80E-99	700	0.006	280.186	4.56E-122
38	0.002	2.36E-100	700	0.009	227.816	3.42E-99
39	0.003	4.71E-238	300	0.037	605.338	1.00E-258
40	0.001	1.42E-109	-600	0.011	419.828	4.77E-182
41	0.002	0.00E+00	700	0.034	1200.393	0.00E+00
42	0.002	0.00E+00	-100	0.060	1025.980	0.00E+00
43	-0.001	1.33E-77	700	0.007	221.464	1.43E-96
44	0.001	0.00E+00	150	0.025	1041.021	0.00E+00
45	0.002	1.72E-215	-125	0.017	496.656	1.59E-214
46	0.002	3.00E-101	-550	0.021	838.724	0.00E+00
47	0.004	0.00E+00	25	0.071	1222.212	0.00E+00
48	0.017	0.00E+00	-175	0.135	3739.852	0.00E+00
49	0.008	2.30E-253	-25	0.036	595.694	9.94E-255
50	0.004	2.21E-200	175	0.025	605.728	1.63E-260
51	0.021	0.00E+00	300	0.329	17571.918	0.00E+00
52	0.007	0.00E+00	300	0.206	7725.705	0.00E+00
53	0.004	0.00E+00	700	0.059	2221.461	0.00E+00
54	0.005	0.00E+00	125	0.058	2203.846	0.00E+00
55	0.009	0.00E+00	125	0.060	1405.042	0.00E+00
56	0.007	0.00E+00	25	0.067	2151.779	0.00E+00
57	0.006	1.99E-62	-700	0.012	172.651	3.08E-75
58	0.003	2.55E-166	450	0.012	415.634	3.93E-180

59	0.002	3.91E-59	200	0.004	134.000	8.60E-59
60	0.001	1.83E-19	325	0.016	252.543	1.54E-109
61	0.001	8.06E-100	-300	0.007	259.407	5.58E-113
62	0.001	2.60E-20	700	0.003	68.096	2.92E-30
63	-0.003	1.06E-208	700	0.024	829.529	0.00E+00
64	0.003	0.00E+00	-600	0.026	804.487	0.00E+00
65	0.003	0.00E+00	400	0.118	3985.281	0.00E+00
66	0.002	5.43E-88	500	0.010	221.938	1.26E-96
67	0.002	0.00E+00	625	0.049	1723.137	0.00E+00
68	0.007	0.00E+00	625	0.038	947.283	0.00E+00
69	0.021	0.00E+00	-650	0.145	1988.616	0.00E+00
70	0.016	0.00E+00	-325	0.208	3112.801	0.00E+00
71	0.005	0.00E+00	475	0.067	2294.765	0.00E+00

Tabla 4. Datos compilados para las 71 neuronas analizadas. B óptimo para el movimiento con su respectivo desfaseamiento y prueba anova para el modelo óptimo.