



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

**Codificación contextual de la cinemática en el núcleo entopeduncular
en animales en libre movimiento**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

ANIL KUMAR VERMA RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. FATUEL TECUAPETLA AGUILAR
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR
UNAM

COMITÉ TUTOR

DR. ROMÁN ROSSI POOL
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR
UNAM

DR. PAVEL RUEDA OROZCO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA
UNAM

CD.MX., ENERO DE 2025



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.

ÍNDICE

ÍNDICE	2
AGRADECIMIENTOS.....	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
ANTECEDENTES	8
El concepto de los ganglios basales.....	8
Teorías del funcionamiento de los ganglios basales	10
El núcleo entopeduncular, ¿un núcleo de salida?	12
JUSTIFICACIÓN.....	19
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	19
HIPÓTESIS.....	19
OBJETIVO GENERAL	19
OBJETIVOS PARTICULARES.....	20
METODOLOGÍA.....	20
Diseño de una tarea conductual	20
Análisis cinemático	21
Registros electrofisiológicos	22
Regresiones lineales.....	22
Análisis poblacionales	24
Análisis de acoplamiento de la actividad neural a conductas cíclicas	26
Entrenamiento de máquinas de vectores de soporte (Support vector machines).....	27
RESULTADOS.....	28
Los ratones pueden realizar una tarea psicofísica basada en estímulos auditivos de frecuencia modulada.....	28
Registros electrofisiológicos en el núcleo entopeduncular	32

Análisis poblacional del EPN revela codificación para recompensa, izquierda y derecha pero no valor	36
La codificación cinemática en el EPN es contextual	43
No existe una segregación entre la codificación cinemática y espacio temporal con la de recompensa	48
¿Qué hace que las trayectorias de Retorno e Ida sean diferentes a nivel poblacional? ..	50
Las unidades del núcleo entopeduncular se modulan por la marcha y la conducta de lengüeteo.....	54
¿Cuál es el significado de una representación tan robusta de la conducta de lengüeteo en casi todas las unidades registradas?	61
DISCUSIÓN	61
CONCLUSIONES	66
REFERENCIAS	67

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente a mis padres y mi hermana por el apoyo incondicional.

Agradezco a todos mis amigos y compañeros que me apoyaron en el transcurso de estos años.

Agradezco al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, al Instituto de Fisiología Celular y a la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de formarme como científico.

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por su apoyo para realizar este proyecto mediante la beca 808903.

Agradezco al laboratorio de Subcircuitos Neuronales adscrito al Departamento de Neuropatología Molecular de la división de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular a cargo del Dr. Fatuel Tecuapetla Aguilar por la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo.

Agradezco a los miembros de mi comité tutor, el Dr. Román Rossi Pool y el Dr. Pavel Rueda Orozco por su apoyo en mi desarrollo académico.

Al Dr. Josué Orlando Ramírez-Jarquín por su gran ayuda en la realización de este proyecto.

Al Dr. Juan Antonio Laville Conde, a Dagoberto Tapia Ramírez y a Bruno Eloy Méndez Ambrosio por su apoyo técnico para realizar algunos experimentos.

A la Unidad de Bioinformática del Instituto de Fisiología Celular, en particular al Dr. Augusto César Poot Hernández y al Dr. Carlos Alberto Peralta Álvarez por su increíble ayuda para configurar programas de análisis bioinformático.

A la Unidad de Imagenología del Instituto de Fisiología Celular, en particular a la Dra. Ruth Rincón Heredia, la Dra. Yazmín Ramiro Cortés, el Dr. Rodolfo Paredes Díaz, el Dr. Abraham Rosas Arellano y el Dr. Nicolás Jiménez Pérez por su extensa ayuda adquiriendo imágenes al microscopio.

Al Bioterio del Instituto de Fisiología Celular por proveer animales para el desarrollo de este proyecto, en particular a la Dra. Claudia Rivera Cercedo y al Dr. Héctor Malagón Rivero y demás personal del bioterio por las enseñanzas.

A la Unidad de Cómputo del Instituto de Fisiología Celular y a Ana Ma. Escalante Gonzalbo y Francisco Pérez Eugenio por su apoyo.

RESUMEN

El núcleo entopeduncular (EPN) se suele denominar uno de los núcleos de salida de los ganglios basales debido a su anatomía altamente convergente. El EPN de roedores se ha implicado en la codificación de recompensa y valor, mientras que se ha descubierto que el análogo de primates, el globo pallidus interno, se modula con algunos movimientos y en algunas circunstancias. En este estudio, se buscó comprender cómo la actividad del EPN de roedores está relacionada con el movimiento y otros parámetros como la recompensa y la dificultad, en particular durante la locomoción. También se buscó entender si el núcleo codifica el movimiento a nivel de cuerpo completo o de partes específicas del cuerpo.

Con este fin, se diseñó una tarea conductual de elección forzada de dos alternativas de movimiento libre con dos períodos de desplazamiento (trayectorias de regreso e ida). Tras entrenar ratones, se registró la actividad del núcleo EPN. Mediante el seguimiento del animal por video, se analizó la relación que variables motoras y no motoras tuvieron con la actividad del núcleo a nivel de células individuales y dinámica poblacionales. Se encontró una representación robusta de la recompensa pero no de la dificultad de los estímulos auditivos. Las variables espacio-temporales explican mejor la actividad del núcleo en comparación con variables cinemáticas. Se descartó la representación somatotópica del movimiento en este núcleo. Los hallazgos del presente estudio muestran una representación compleja y multiplexada de la cinemática del movimiento, en donde el objetivo del movimiento parece determinar el nivel de representación cinemática. Interesantemente, las unidades que codifican la recompensa pueden también reflejar parámetros del movimiento, desafiando la idea de vías separadas para estas dos funciones.

ABSTRACT

The entopeduncular nucleus (EPN) is often referred to as one of the output nuclei of the basal ganglia owing to their highly convergent anatomy. The rodent EPN has been implicated in the coding of reward and value, while its primate counterpart, the internal globus pallidus, has been found to be modulated by certain movements and in some circumstances. This study aimed to understand how the activity of the EPN in rodents relates to movement and other parameters such as reward and difficulty, particularly during locomotion. It also sought to determine whether this nucleus encodes movement at the level of the whole body or specific body parts.

To this end, a two-alternative forced-choice task was designed in freely moving animals with two distinct periods of displacement. After training mice the activity of the EPN was recorded. Using video tracking, the relationship between motor and non-motor variables and the activity of the nucleus was analyzed at both individual cell and population dynamics levels. A robust representation of reward was found, but not of the difficulty. Spatiotemporal variables explained the activity of the nucleus better than kinematic ones, and somatotopic representation of movement in this nucleus was ruled out.

The findings in this study indicate a complex and multiplexed representation of movement kinematics, where the goal of the movement appears to determine the level of kinematic representation. Interestingly, the units coding for reward may also reflect movement parameters, challenging the idea of distinct pathways for these two functions.

INTRODUCCIÓN

El núcleo Globo Pálido interno (GPi) ha sido históricamente poco estudiado en comparación con otras estructuras de los ganglios basales. Sin embargo, tiene una localización crucial, porque se considera la “salida” de los ganglios basales, representando una convergencia anatómica notable que se caracteriza por una reducción en el número de neuronas, en contraste con las áreas de entrada. Existen diversas hipótesis sobre su funcionamiento, pero la evidencia experimental ha arrojado resultados contradictorios. Además, el GPi está estrechamente relacionado con enfermedades neurológicas que presentan manifestaciones motoras, como la Enfermedad de Parkinson y diversas distonías, convirtiéndose en un sitio terapéutico clave para intervenciones terapéuticas (Blomstedt & Hariz, 2010).

Mientras que el papel del GPi en el movimiento de las extremidades ha sido objeto de estudio en primates, aún no se ha investigado cómo este núcleo contribuye al desplazamiento de un animal en libre movimiento. Recientemente, también se ha comenzado a explorar su implicación en funciones cognitivas, como la codificación de recompensa y la evaluación de acciones; sin embargo, estos estudios han avanzado de forma paralela al análisis de su rol en el movimiento.

En este trabajo se propuso abordar la función del GPi, o núcleo entopeduncular (EPN) como se denomina en ratones, de manera más integral. Se diseñó una tarea en ratones en libre movimiento que involucra una decisión, y se registró la actividad del EPN. A través de seguimiento por video y un análisis detallado tanto a nivel de célula única como de dinámicas poblacionales, se concluyó que el EPN multiplexa múltiples variables, abarcando aspectos cinemáticos, espacio-temporales y de recompensa. Este enfoque integral no solo amplía nuestra comprensión del GPi, sino que pone a prueba algunas de nuestras hipótesis sobre el funcionamiento de los ganglios basales.

ANTECEDENTES

El concepto de los ganglios basales

El término ‘ganglios basales’ es un concepto anatomo-funcional que ha evolucionado desde su concepción. Cuando fue acuñado, este término involucraba únicamente a los núcleos caudado, putamen y globo pálido (David Ferrier, 1886). Sin embargo, con el avance en el estudio de las proyecciones neuronales, hoy en día el término también abarca el núcleo subtalámico y la sustancia nigra. Así, los ganglios basales se conciben como un conjunto de núcleos subcorticales interconectados por las proyecciones de sus neuronas, un concepto que ha demostrado ser útil para comprenderla función cerebral, dado que se encuentra evolutivamente conservado (Grillner & Robertson, 2016).

Esta convergencia es particularmente notable por dos razones: 1) el estriado, que actúa como entrada del sistema, recibe proyecciones de prácticamente todas las regiones del cerebro; y 2) la salida presenta una cantidad significativamente menor de neuronas en comparación con la entrada. El estriado recibe proyecciones de casi todas las regiones corticales, incluidas cortezas motoras, sensoriales y asociativas (Hintiryan et al., 2016; Hunnicutt et al., 2016). Además, también recibe proyecciones originadas en hipocampo (relacionado con navegación espacial y memoria), amígdala (involucrado en conductas de miedo y escape), hipotálamo (importante en homeostasis), el cerebro medio, tálamo y el tallo. Esto sugiere que los ganglios basales estarían al tanto de una variedad muy amplia de información, relevante para diversas conductas.

La confluencia de información en la entrada de los ganglios basales se torna aún más intrigante al considerar la notable disminución en la cantidad de neuronas en la salida (**Figura 1A**). Este sistema presenta una reducción drástica en el número de neuronas, de entre 2-3 órdenes de magnitud (Oorschot, 1998). Esta diferencia sugiere un proceso de síntesis de información. ¿Qué sucede entre la entrada y la salida?

Clásicamente se han conceptualizado a los ganglios basales como un embudo de información, donde la información fluye desde la entrada (estriado y núcleo subtalámico) hacia la salida (Globo pálido interno y sustancia nigra pars reticulada) a través de dos vías principales: la vía directa y la vía indirecta (**Figura 1B**). Estas vías corresponden a grandes poblaciones de neuronas estriatales de proyección, que no solo difieren en sus sitios de proyección, sino que también expresan distintos receptores de dopamina: las que proyectan directamente a la salida (vía directa, que expresan receptores D1) y las que hacen de forma indirecta haciendo relevos con núcleos adicionales (vía indirecta, que expresan

receptores D2). Esta propuesta tradicional propone un flujo relativamente simple, sin embargo, avances en el entendimiento de la anatomía han revelado la existencia de circuitos intrínsecos que pintan un panorama más complejo (**Figura 1C**).

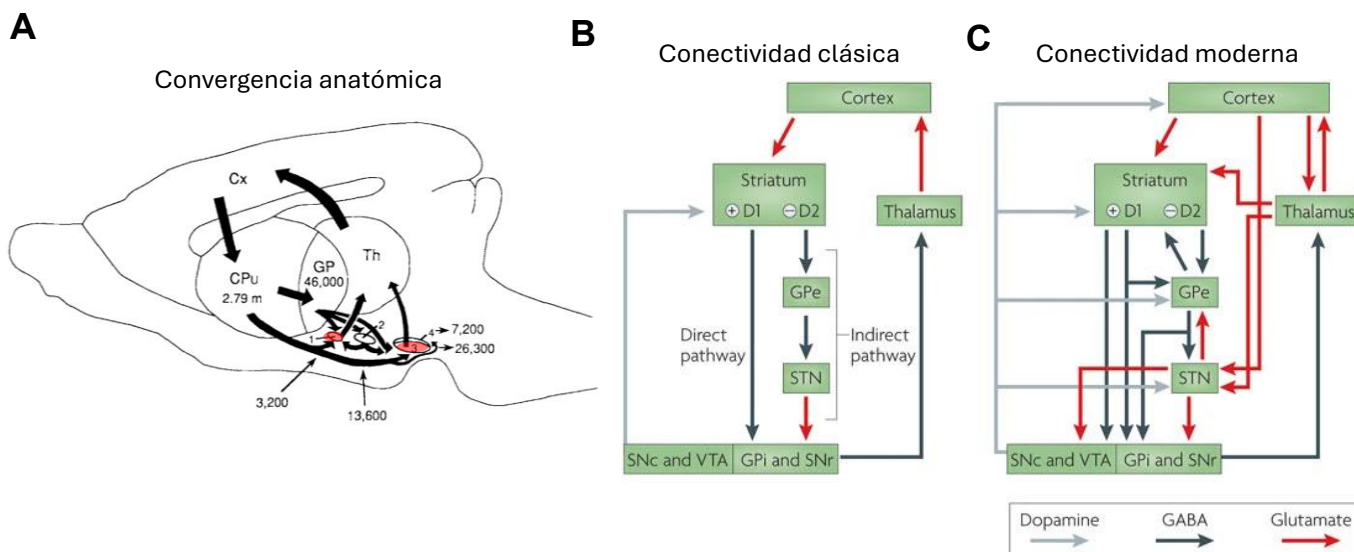


Figura 1. La anatomía de los ganglios basales se caracteriza por una convergencia anatómica desde los núcleos de entrada hasta los núcleos de salida.

A. Los núcleos de entrada de los ganglios basales tienen 2-3 órdenes de magnitud más neuronas de los núcleos de salida. Se ha estudiado la cantidad de neuronas que cada núcleo tiene mediante técnicas estereológicas en la rata. Tomada de (Oorschot, 1998).

B. Clásicamente se ha pensado que la información desde la entrada hasta la salida del estriado sigue dos grandes vías, la directa y la indirecta.

C. El estudio de la anatomía en los últimos años ha dejado claro que la conectividad es más compleja. B y C tomadas de (Redgrave et al., 2010)

Desde un punto neuroquímico, la gran mayoría de las neuronas en los ganglios basales son inhibitorias (gabaérgicas), lo que resulta en un proceso de inhibición serial. El único núcleo glutamatérgico es el subtalámico. Las neuronas de proyección del estriado son gabaérgicas y también son inherentemente silentes. Sin embargo, el resto de los núcleos tienen neuronas con actividad intrínseca, por lo que estarían inhibiendo a sus sitios de proyección. Esto también es cierto para los núcleos de salida, que presentan actividad tónica y se cree que están continuamente inhibiendo a los sitios a los que proyectan.

Tradicionalmente, los ganglios basales han sido considerados parte del sistema motor, en particular debido a enfermedades como la Enfermedad de Parkinson (Obeso et al., 2017) y la Corea de Huntington que presentan claras manifestaciones motoras. Así, la atención de la investigación se enfocó en las proyecciones hacia regiones motoras por parte de las

salidas de los ganglios basales. Sin embargo, hoy se sabe que los ganglios basales también están íntimamente relacionados con el sistema de recompensa del cerebro (límbico) y que tiene proyecciones hacia regiones no motoras del cerebro incluídas cortezas asociativas, tallo, entre otras (Cox & Witten, 2019). Esto sugeriría que los ganglios basales tienen funciones motivacionales y cognitivas importantes.

Teorías del funcionamiento de los ganglios basales

La necesidad de explicar cuál es el funcionamiento de los ganglios basales surgió en parte porque diversas enfermedades con síntomas motores empezaron a implicar a los ganglios basales como el origen de la disfunción. Asimismo, la anatomía tan particular de inhibición serial y convergencia ha dado lugar a diversas hipótesis de cómo podría estar contribuyendo a la conducta del animal.

- **El modelo de la teoría de disparo:** Es una de las teorías que más ha marcado al estudio de los ganglios basales. Surgió a partir de observaciones clínicas, anatómicas y neuroquímicas y tiene como hipótesis fundamental que la actividad en los núcleos de salida están inversamente correlacionados con el movimiento (Albin et al., 1989; DeLong, 1990; Penney & Young, 1983). Puesto que los núcleos de salida tienen actividad tónica, estarían ejerciendo una inhibición constante del tálamo motor y así del movimiento. Desde el punto de vista de la anatomía clásica (**Figura 1**) las vías directa e indirecta serían antagónicas porque ejercerían efectos opuestos sobre la salida. Este modelo es en particular útil para explicar la Enfermedad de Parkinson, pues ofrece una explicación de cómo la depleción dopaminérgica generaría una sobreactivación de la salida, por cómo la dopamina ejerce su acción en los receptores de las neuronas del núcleo de entrada de los ganglios basales. Si bien existen evidencias experimentales que apoyan este modelo (Kravitz et al., 2010), el avance en el entendimiento de la complejidad de la anatomía, así como las múltiples funciones no motoras en las que se ha implicado a los ganglios basales limitan el poder explicativo de este modelo.
- **Ensamblajes estriatales y actividad enfocada:** Esta teoría postula que en el estriado existe la representación espacialmente segregada de diferentes conductas motoras. Puesto que el estriado tiene diversas entradas de muchas regiones cerebrales, podrían informar qué conducta es más apropiada para el contexto del animal. Así, se activarían grupos de neuronas (también llamados ensambles) y se seleccionaría, a través de inhibición periférica, al más apropiado. La representación de una conducta pasaría de un código espacial en la entrada a uno espacio-temporal en los núcleos de salida a través de un ‘enfoque dinámico’ (**Figura 2A**) (Hikosaka et al., 2000; Mink, 2003; Wickens, 1997). Con el advenimiento de la imagenología de calcio en libre

movimiento varios laboratorios han encontrado cierta evidencia de que se puede decodificar la conducta motora a partir de ensambles estriatales (Klaus et al., 2017; Markowitz et al., 2018; Parker et al., 2018). Sin embargo, todavía no se conoce si en efecto existe esta actividad enfocada en los núcleos de salida. Tampoco ofrece una explicación de las funciones de recompensa que se han encontrado en los ganglios basales.

- **Circuitos paralelos:** Una debilidad de ambos modelos previos es que se enfocan mucho en la función motora y dejan de lado diversas proyecciones anatómicas (y otras funciones en las que los ganglios basales han probado ser importantes). Por lo mismo, se ha postulado que existen circuitos paralelos para diferentes tipos de funciones que además se encontrarían anatómicamente segregados (**Figura 2B**) (Alexander et al., 1990; Redgrave et al., 2010). Aunque alguna evidencia apunta a que sí hay cierta segregación en los patrones de proyección, existe otra que resalta la interconectividad interna de los ganglios basales (**Figura 1C**) y pone en duda esta idea.

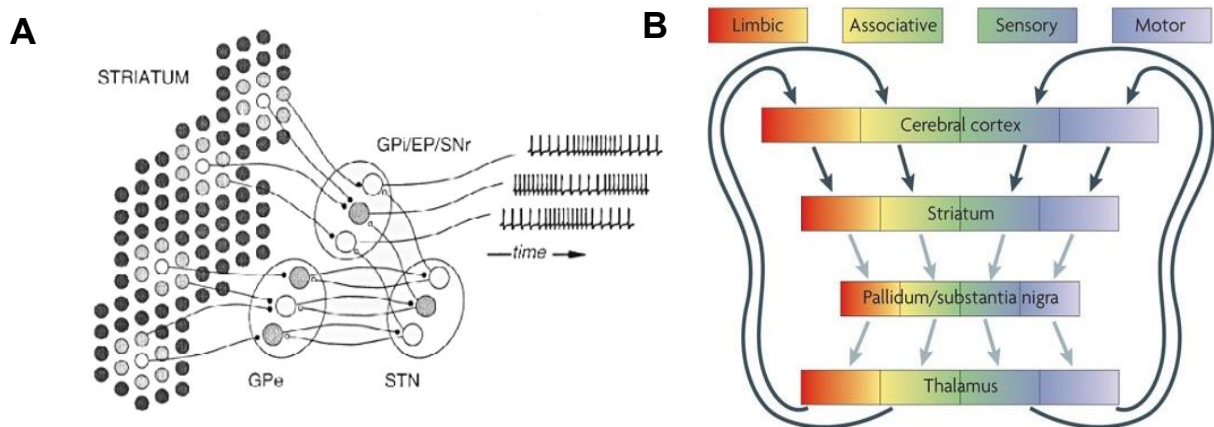


Figura 2. Teorías sobre el funcionamiento de los ganglios basales.

A. Adaptada de (Wickens, 1997). Se esquematizan diferentes ensambles estriatales con neuronas activas (en blanco y gris) e inhibición periférica (en negro) que ‘compiten’ para enfocar la actividad en los núcleos de salida (GPI/EP/SNr). Se hipotetiza la transformación de un patrón espacial a un patrón espaciotemporal.

B. Adaptada de (Redgrave et al., 2010). Se postula que existen circuitos de retroalimentación paralelos que segregan las diversas funciones que se han atribuido a los ganglios basales.

Una de las debilidades más importantes de los modelos hasta ahora es que no explican la gran cantidad de funciones no motoras que se han comprobado dependen del estriado. La frecuencia de disparo no explica cómo el estriado estaría involucrado en la flexibilidad

conductual (Alatriste-León et al., 2020), la generación de conductas habituales (H. F. Kim et al., 2015) o el aprendizaje por reforzamiento y la toma de decisiones (Cox & Witten, 2019), entre muchas otras. Además, supone respuestas uniformes de las poblaciones de los núcleos. Así, es muy probable que los ganglios basales empleen un algoritmo más complejo que la sola frecuencia de disparo para representar información. Por otro lado, es probable que la gran diversidad de información de tantas regiones cerebrales que converge en el estriado apoye un cómputo más integral y no tan segregado.

En este contexto, un tema recurrente y fundamental en las propuestas sobre cómo los ganglios basales realizan el cómputo de información es la necesidad de comprender cómo las salidas de estos núcleos representan dicha información. Así, destaca la relevancia de estudiar la actividad de este núcleo con mayor complejidad.

El núcleo entopeduncular, ¿un núcleo de salida?

Históricamente, existió primero un interés en entender cómo el GPi se relacionaba con la generación de movimiento. Durante un tiempo, predominó el interés en registrar la actividad de este núcleo en primates no humanos mientras que realizaban movimientos de las extremidades, generalmente en situación de cabeza fija. A medida que se fue comprendiendo el papel de los ganglios basales en la codificación de recompensa, también se empezó a investigar este aspecto en el GPi. Sin embargo, el estudio de estas dos funciones se ha abordado de manera separada, ignorando así interacciones integradoras en este núcleo.

El EPN y el movimiento

Tradicionalmente, se consideraba que el GPi actuaba principalmente como un centro de inhibición para los núcleos de salida de los ganglios basales, modulando así la actividad cortical y la iniciación del movimiento (Albin et al., 1989). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que la actividad neuronal en el GPi no solo es inhibitoria, sino que también contiene información sobre la intención motora, el patrón de movimiento y la retroalimentación sensorial.

Una vez que se estableció que en efecto las neuronas del GPi disparaban en relación con la generación de movimiento primordialmente voluntario (no pasivo) de las extremidades del primate (DeLong, 1971), surgió el interés de comprender qué información estaba codificada en esta actividad. Las primeras hipótesis sugerían que el GPi podría estar involucrado en la generación de contracción muscular a bajo nivel, representando diferentes músculos y orquestando su contracción. Por lo mismo, una primera ola de estudios se enfocó en la

hipótesis de que este núcleo estaría involucrado con la generación de contracción muscular a bajo nivel, incluso registrando la actividad electromiográfica de múltiples músculos. Algunos concluyeron que estas neuronas codifican información relacionada a la cinemática del movimiento, como por ejemplo a la velocidad, amplitud, fuerza o la duración (Anderson & Horak, 1985; Anderson & Turner, 1991; Georgopoulos et al., 1983; Mitchell et al., 1987). Además, se descubrió que la dirección del movimiento resultante está representada en la actividad de este núcleo, lo que sugiere una codificación más compleja que la mera contracción de músculos individuales (Anderson & Horak, 1985; Mitchell et al., 1987; Turner & Anderson, 1997).

El uso de registros electromiográficos permitió evaluar con precisión la salida motora y analizar la latencia entre la modulación del GPi y la actividad muscular, con el objetivo de determinar si existía una relación causal. Sin embargo, se observó una considerable variabilidad en esta latencia; la actividad de las neuronas del GPi no siempre precedía a la actividad muscular y, en algunos casos, ambas ocurrían simultáneamente (Mitchell et al., 1987). Ante estos hallazgos, algunos investigadores sugirieron que el GPi podría estar modulando la amplitud y fuerza de los movimientos, más que el patrón de activación muscular en sí. (Mink & Thach, 1991a).

Con el avance del estudio sobre la codificación del movimiento en el GPi, emergió un hallazgo clave: había una notable variabilidad en cómo una neurona respondía a movimientos similares en condiciones diferentes. Se planteó la hipótesis de que movimientos rápidos, conocidos como balísticos, serían gestionados por el cerebelo, mientras que movimientos más lentos, dependientes de retroalimentación sensorial, estarían a cargo de los ganglios basales (Kornhuber, 1971). Aunque en el putamen de primates se observó modulación acorde a esta teoría (DeLong, 1973), los experimentos realizados en el GPi revelaron la complejidad con la que este núcleo representa el movimiento. En 1991 Mink JW y Thach WT publicaron estudios pioneros que evaluaron la actividad de neuronas individuales mientras un primate realizaba diferentes tipos de movimientos de la muñeca: rampas, balísticos, lentos, guiados por retroalimentación sensorial y autoiniciados (**Figura 3A**). Aunque el GPi mostraba modulación para todos los tipos de movimientos, una neurona específica podía responder a uno y no a otro, a pesar de que la salida motora fuera similar. Además, estos investigadores concluyeron que la correlación entre la actividad del GPi y la cinemática del movimiento era débil e inconsistente; es decir, podía reflejar la cinemática en ciertos movimientos, pero no en otros, aunque involucraran la misma extremidad. También notaron que la modulación del GPi se producía tardíamente, iniciándose solo una vez comenzado el movimiento (Mink & Thach, 1991b).

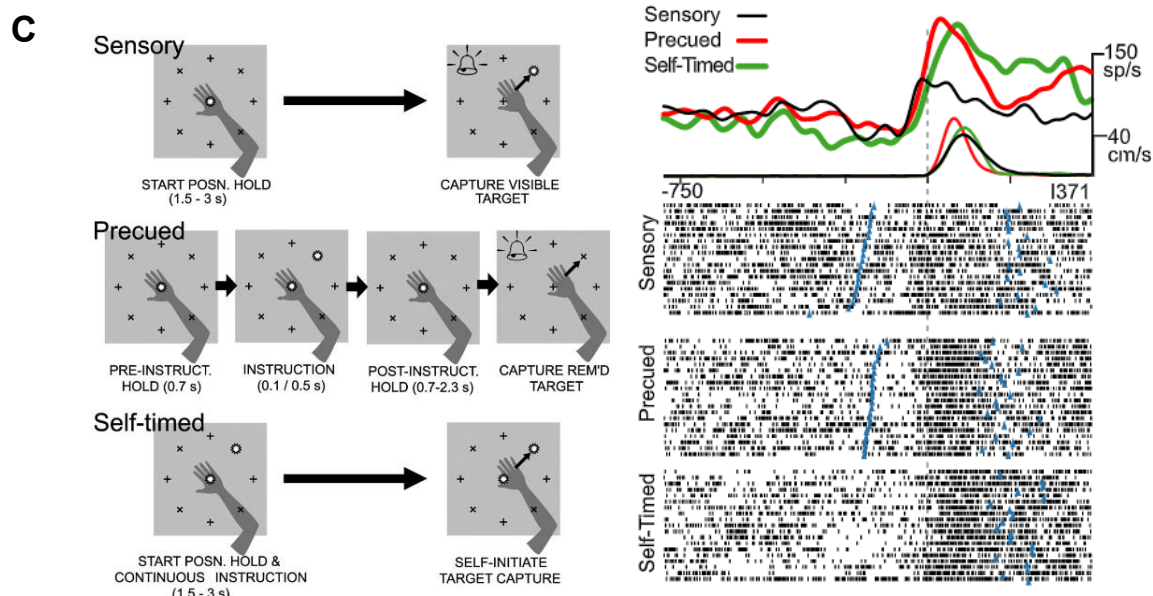
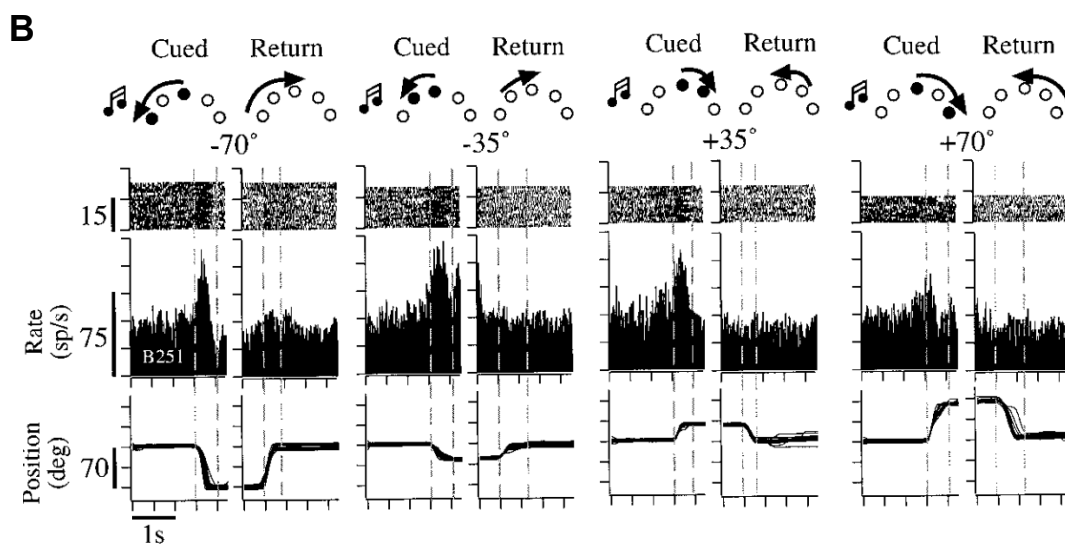
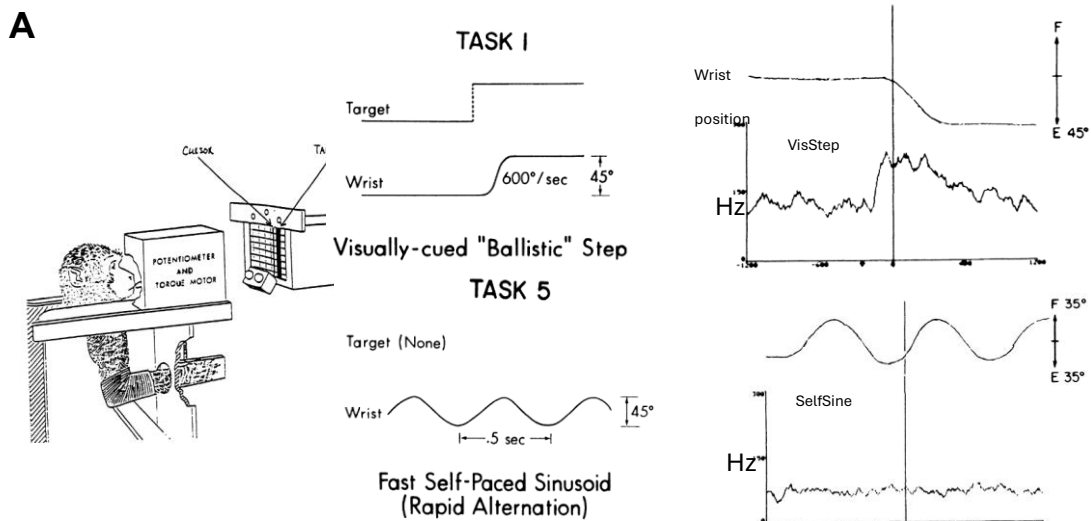


Figura 3. La representación del movimiento en el GPi tiene mucha variabilidad.

A. Se registró la actividad unitaria de neuronas del globo pálido (interno y externo) ante diferentes movimientos de la muñeca en primates. Algunos de los movimientos estaban guiados por un estímulo visual (como la Tarea 1) mientras que otros no (como la Tarea 5). Se muestra la actividad de una unidad que se modula ante la tarea 1 pero no muestra cambios en la Tarea 5.

B. Modificada de (Gdowski et al., 2001). Se registró la actividad neuronal de GPi en primates realizando movimientos de muñeca con retroalimentación visual a diversos objetivos. El inicio del movimiento se señalizó mediante un estímulo auditivo y se recompensó con jugo. Debían regresar la muñeca a la posición central. Se muestra la actividad de una neurona ante cuatro diferentes movimientos junto con el regreso de a la posición central. Destaca que esta unidad sólo presenta modulación (incremento en la frecuencia de disparo) ante el movimiento señalizado pero no cuando el animal regresaba la muñeca a su posición central.

C. Modificada de (Turner & Anderson, 2005) Se entrenó a primates a realizar movimientos de la extremidad superior en dos dimensiones en donde debían colocar la mano en una posición central y se les indicaba con una luz a qué posición periférica debían moverla. Se plantearon 3 condiciones: sensorial, en donde se indicaba la posición periférica al mismo tiempo que se indicaba con un estímulo auditivo que debía iniciar el movimiento; preguiado, se prende la luz periférica, se apaga, y después se indica (estímulo auditivo) que se ejecute el movimiento; autoiniciado, en donde se indica la posición periférica constantemente y el animal decide cuándo realizar el movimiento.

Se muestra una unidad que se registró ante estas tres condiciones descritas anteriormente. La frecuencia de disparo (arriba) muestra marcadas diferencias entre la condición sensorial y las otras dos.

La gran variabilidad en las respuestas neuronales del GPi ante movimientos similares se repitió en varios estudios. Esto generó un impulso por comprender qué condiciones cognitivas podrían modular este núcleo. Al investigar movimientos secuenciales, se descubrió que más allá de la cinemática del movimiento, las neuronas reflejaban la estructura de la tarea (Brotchie et al., 1991). Además, interpretaron que no era la rapidez (o lo balístico) de un movimiento lo que incrementaba la modulación del GPi, sino la facilidad de este. Otro estudio indicó que la dependencia en la memoria era un aspecto importante en la modulación del GPi, mostrando una mayor modulación cuando el movimiento dependía de la memoria (Turner & Anderson, 2005). Además, se planteó que los movimientos realizados por una recompensa podrían modular más efectivamente a las neuronas (Gdowski et al., 2001). A pesar de las controversias sobre qué factores generan una representación más fuerte del movimiento en el GPi, queda claro que el contexto cognitivo en el que se realiza un movimiento influye significativamente en su modulación.

La mayoría de los estudios sobre el GPi y el movimiento se han llevado a cabo en primates no humanos en situación de cabeza fija, y han estado centrados en el movimiento de las extremidades. Sin embargo, un estudio realizado en gatos mientras caminaban en una banda (Mullie et al., 2020) encontró neuronas que respondían al ciclo de la marcha. Importante, al introducir obstáculos los autores concluyeron que aspectos cognitivos de la marcha (como evitar obstáculos) también se representaban en este núcleo.

Dado que en diversas partes del cerebro existe una representación somatotópica de la actividad relacionada al movimiento, este ha sido un tema de interés en los ganglios basales. Como se mencionó anteriormente, una corriente de pensamiento sugiere que los ganglios basales están organizados en circuitos de retroalimentación paralelos, lo que implicaría que las regiones de la corteza motora asociadas a distintas partes del cuerpo también estarían segregadas en los ganglios basales. Si bien ha habido estudios realizados en varias especies que incluyen humanos, primates no humanos y gatos (Baker et al., 2010; Larsen & McBride, 1979; Nambu, 2011) que encuentran que también existe una representación somatotópica del movimiento en el GPi, no todos concuerdan (DeLong, 1971; Mitchell et al., 1987).

En el estudio de la relación entre la actividad del GPi y el movimiento es importante destacar que la mayoría de las investigaciones se han realizado en primates no humanos, en condiciones de cabeza fija y centrándose en el movimiento de las extremidades. Sin embargo, aún permanece un vacío en el entendimiento sobre cómo se representa el desplazamiento de un animal en este núcleo.

El EPN y la recompensa

Con el progreso del estudio de la anatomía de los ganglios basales, se identificó que el GPi proyecta a la habénula lateral, una región notable por su codificación de recompensa negativa y su conexión con el sistema dopaminérgico (Hong et al., 2011). Aunque se sabía desde hace tiempo que el GPi enviaba proyecciones a la habénula, una estructura reguladora límbica, y que algunas neuronas del GPi respondían a la recompensa (Kimura et al., 1984), el primer estudio que se enfocó específicamente en esta función fue realizado por Hong S. y Hikosaka O. en 2008. Entrenaron a primates a realizar movimientos sacádicos hacia objetivos recompensantes y no recompensantes (**Figura 4A**) y evidenciaron que neuronas del GPi que proyectan hacia la habénula pueden distinguir entre estas dos condiciones (**Figura 4C**), codificando tanto la dirección del movimiento como su naturaleza recompensante (**Figura 4D**). Un aspecto relevante es que cuando se cambiaba la

localización del objetivo recompensante, la actividad neural se reorganizaba de acuerdo con el nuevo sitio de recompensa.

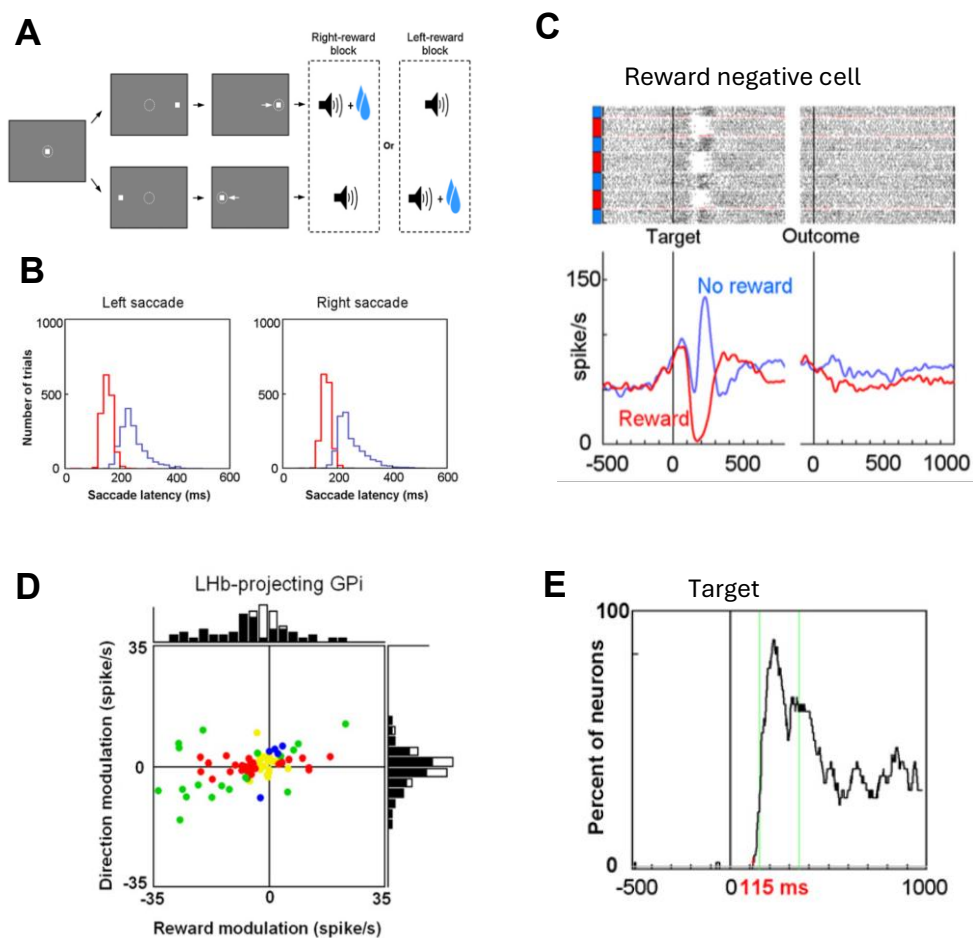


Figura 4. Las neuronas del GPi que proyectan a la habénula pueden codificar recompensa.

A. Se entrenó a primates en cabeza fija a realizar movimientos sacádicos (de los ojos) hacia dos objetivos. El primate debía primero centrar su mirada hacia un objetivo central. Después, aparecía un segundo objetivo a la izquierda o derecha del inicial. En un bloque, uno de los dos objetivos era recompensado y el otro no. Sin embargo, el primate debía realizar los movimientos hacia el objetivo no recompensando para poder continuar el bloque.

B. La respuesta de la sacada se modulaba según la sacada era recompensada (histograma rojo) o no recompensada (histograma azul) mostrando que el primate comprendía la regla.

C. Ejemplo de una neurona del GPi con proyección a la habénula (por estimulación antidrómica desde un segundo electrodo colocado en la habénula) que muestra actividad diferencial entre los ensayos recompensado y los no recompensados.

D. Modulación de las neuronas GPi-LHb ante dos variables, la recompensa y la dirección de la sacada. Puntos rojos: modulación significativa por recompensa; azules: por

dirección; verdes: modulación por recompensa y dirección. Puntos amarillos: sin modulación.

Adaptada de (Hong & Hikosaka, 2008)

Cuando se exploró esta idea en roedores, se constató que esta misma subpoblación de neuronas de EPN/GPi que proyectan a la habénula también podían codificar el valor y la recompensa (Stephenson-Jones et al., 2016). Concluyeron que las neuronas GPi-LHb eran capaces de codificar el valor del estímulo no condicionado de manera graduado.

Resaltaron que los estímulos recompensantes eran codificados como un decremento de la actividad y los estímulos negativos como un incremento de la actividad. Cuando llevaron esta idea a una tarea operante en libre movimiento, fueron capaces de alterar la respuesta de los animales a través de manipulaciones optogenéticas. Inhibiendo la actividad de estas neuronas, los animales preferían repetir la acción inhibida, mientras que al sobreactivar estas neuronas, evitaban la acción. Curiosamente, la manipulación no afectó la decisión en el momento, sino que alteró las decisiones subsecuentes, sugiriendo que estas neuronas no solo codifican el valor del estímulo, sino que también podrían participar en la evaluación de acciones.

No obstante, es relevante mencionar que la implicación de las neuronas GPi-LHb en la evaluación de acciones es un tema controvertido. Otro grupo de investigación, que estudió la misma proyección en la misma tarea de condicionamiento operante, encontró que eran las neuronas del hipotálamo lateral (muy cerca del EPN) las que eran capaces de modular la evaluación de acciones, no así la GPi-LHb (Lazaridis et al., 2019). Usando técnicas moleculares más finas pudieron segregar a las dos poblaciones que proyectan a la habénula, tanto del núcleo entopeduncular como del hipotálamo lateral, y concluyeron que era la manipulación de neuronas del hipotálamo la que podía modificar la manera en que los animales tomaban decisiones.

Aspectos más cognitivos del EPN

Además de su papel en la codificación de recompensas, es posible que el GPi esté implicado en funciones más cognitivas, como la determinación de tiempo. En un estudio que examinó el proceso de decisión en varias áreas cerebrales, incluido el GPi, un grupo de investigación destacó la falta de información sobre la decisión en este núcleo (Thura & Cisek, 2017). Sin embargo, encontraron señales que evolucionaban con el tiempo y se adaptaban a la rapidez con la que el animal tomaba decisiones. Ellos hipotetizaron que este núcleo estaría determinando un proceso al que llamaron ‘urgencia’, la rapidez con la que el animal decide a expensas de la precisión.

JUSTIFICACIÓN

Desde un punto de vista teórico, y considerando a los ganglios basales como una red neural convergente, resulta relevante conocer qué variables están codificadas en la capa de salida (y la capa con menor cantidad de nodos). Por otro lado, clínicamente esta estructura es muy relevante para tratamientos de enfermedades motoras y se desconoce el mecanismo de acción de estas herramientas terapéuticas. Investigar cómo la actividad del GPi puede estar afectando la ejecución motora es crucial para comprender cómo su desregulación podría estar contribuyendo a la expresión de la enfermedad.

Por otro lado, todos los estudios de codificación neural en este núcleo se han realizado en situación de cabeza fija, por lo que resulta importante explorar cómo este núcleo estaría involucrado en el desplazamiento del animal.

Finalmente, el estudio de la codificación de recompensa ha evolucionado en paralelo al estudio de la codificación cinemática. Por tanto, es importante estudiar estas dos funciones en conjunto mediante un paradigma conductual más integral.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Las neuronas del núcleo GPi/entopeduncular codifican parámetros motores y/o motivación durante la generación de acciones dirigidas a objetivos en libre movimiento?

HIPÓTESIS

La actividad del GPi/núcleo entopeduncular codifica la cinemática del movimiento del cuerpo completo (desplazamiento) y no el movimiento de partes específicas del cuerpo.

Las neuronas que codifiquen recompensa no tendrán información de movimiento.

El núcleo tendrá una representación del valor de una acción.

OBJETIVO GENERAL

General: Determinar la contribución a la decisión y a la ejecución motora de las neuronas del núcleo entopeduncular durante una tarea conductual de giro ipsi y contra lateral dirigida a un objetivo en libre movimiento.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Establecer un paradigma conductual que permita medir aspectos de decisión, movimiento, recompensa y valor.
2. Registrar neuronas del núcleo entopeduncular durante la ejecución de la conducta
3. Correlacionar parámetros motivacionales así como de ejecución motora con la actividad neural.

METODOLOGÍA

Los protocolos experimentales utilizados en este trabajo fueron aprobados por el Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) del Instituto de Fisiología Celular, UNAM (Protocolo FTA-121-17) apegados a la Norma Oficial Mexicana para el uso de animales (NOM-062-ZOO-1999). Los experimentos usaron ratones de la cepa C57BL/6J, machos y hembras, de 2-3 meses de edad al inicio del entrenamiento conductual y de 6-7 meses durante los registros. Los animales se alojaron en un vivarium con un ciclo luz/oscuridad 12/12hrs. Para el entrenamiento fueron restringidos de agua para mantener su peso a un 80% de su peso original. La comida se mantuvo *ad libitum*.

Diseño de una tarea conductual

Para este estudio fue fundamental desarrollar una tarea conductual que pudiera cumplir con los objetivos a estudiar. Se diseñó una tarea conductual que tuviera los elementos de toma de decisión, giro, y desplazamiento. Puesto que estudios previos destacan que la codificación del movimiento en el GPi puede depender de relaciones contextuales, se planteó usar dos periodos de movimiento para compararlos.

Así, se construyó un aparato conductual que consiste en una arena triangular (lado=30cm, altura= 40cm) con piso transparente por el que el ratón puede ser grabado desde una vista inferior. El aparato estaba dentro de una cámara con atenuación de sonido y con iluminación controlada.

Se definió una de las esquinas como Esquina de Espera y las otras dos eran Esquinas de Recompensa, en las que se colocó un puerto de agua, como se muestra en la **Figura 6**. Los puertos de agua se fabricaron a la medida y consistían de un pequeño tubo que podía liberar una gota de agua, entre dos pares de sensores infrarrojos, uno que podía detectar la entrada de la cabeza del animal y el segundo que podía detectar movimientos de lengüeteo de la lengua. Las recompensas consistían de 3microL de agua administradas por un solenoide que se calibraba diariamente.

Los estímulos auditivos se transmitían a través de un tweeter colocado fuera de la arena, dentro de la cámara de atenuación de sonido. La tarea se controló interconectando Bonsai (Lopes et al., 2015), scripts de Python y chips de Arduino.

La tarea implicaba una elección forzada de dos alternativas. En un ensayo el animal debía acercarse a la Esquina de Espera, esperar entre 0.8-1.5 segundos, después de la cuál se reproducía un estímulo auditivo. La entrada a la Esquina de Espera se monitorizó estableciendo una región de interés en el video a través del software Bonsai. Los estímulos auditivos consistieron en barridos de frecuencia modulada de 0.5 segundos. La frecuencia inicial es de 9.2kHz y la frecuencia final de 0, +/-0,2, +/-0,4, +/-0,6, +/-0,8 octavas. Los barridos hacia arriba indicaban que la recompensa de agua se encontraría en el puerto derecho y los barridos hacia abajo que la recompensa se encontraría en el puerto izquierdo. Tras el estímulo auditivo el animal debía desplazarse hasta la esquina correspondiente. Las respuestas correctas fueron recompensadas con una gota de agua y las incorrectas fueron castigadas con un tiempo de espera de 10 a 20 segundos indicado por una atenuación de la luz ambiental.

El entrenamiento se realizó mediante aproximaciones sucesivas, introduciendo una nueva regla tras la adquisición de la regla anterior. Para alcanzar un desempeño estable los animales fueron entrenados por 3 a 4 meses, 6 días a la semana.

Análisis cinemático

El análisis cinemático se llevó a través de extraer la posición de los animales usando DeepLabCut (Mathis et al., 2018). Se calcularon diversas variables cinemáticas como la velocidad angular, la velocidad y la aceleración de desplazamiento. Además, se calculó la posición relativa entre el animal y las diferentes esquinas. Se identificaron 4 momentos por ensayo para alinear la actividad neural: 1) regreso del animal hacia la Esquina de Espera, definida como el inicio de la velocidad negativa entre el animal y la Esquina de Espera; 2) llegada a la esquina de espera, cuando la distancia entre el animal y la esquina es $<0.5\text{pix}$; 3) inicio del giro, cuando la velocidad angular >0.01 grados/s; 4) evaluación, el momento del cruce del sensor infrarrojo en el puerto de agua. A pesar de que la conducta es altamente

estereotipada, existen ligeras variaciones temporales. Para analizar la actividad promedio de un ensayo, se realizó una convolución gaussiana ($\sigma=25\text{ms}$) y se un reescalamiento mediante interpolación lineal (Kobak et al., 2016) a la duración promedio del segmento de todos los ensayos. Esto permitió construir histogramas peri-evento (**Figura 10**).

Diseño de los estímulos auditivos: Los estímulos auditivos se diseñaron como rampas de sonido por la hipótesis de que el animal estaría integrando el estímulo a lo largo de su duración para percibir la cualidad de cambio de frecuencia a lo largo del tiempo (**Figura 6A, abajo**). Cabe mencionar que se seleccionó un rango de frecuencias en donde el umbral de detección, determinado previamente mediante la respuesta a sobresalto acústico, es relativamente lineal para esta cepa de animales (Ouagazzal et al., 2006). Se usó al inicio del movimiento de giro de los animales para determinar el tiempo de respuesta (**Figura 6B**).

Registros electrofisiológicos

Para registrar la actividad del núcleo entopeduncular durante la realización de la tarea conductual, se implantó a animales expertos con un arreglo movable de 16 microalambres (Innovative Neurophysiology Inc.) en las coordenadas del GPi (-1AP, 0.9 lateral derecho, 3.9DV). Los cuidados posquirúrgicos incluyeron tratamiento farmacológico antibiótico, analgésico y antiinflamatorio. Después de 5 días de recuperación, los animales fueron reentrenados durante 1-2 semanas.

Los registros electrofisiológicos se adquirieron a 30kHz (Cereplex Direct, Blackrock Microsystems, UT). Las espigas se detectaron en línea mediante el software de adquisición (Cerebrus, Blackrock Microsystems). Para esto la señal se filtró con un filtro pasa altas de 750Hz y se clasificaron espigas mediante el uso de un umbral y hoops. Las unidades con una relación señal-ruido de al menos 2 se clasificaron en línea mediante un algoritmo de aros y luego se clasificaron de manera offline (Offline Sorter, Plexon). Los eventos conductuales relevantes y la sincronización de video se almacenaron como eventos digitales en el sistema de adquisición.

Regresiones lineales

Se emplearon regresiones lineales simples para evaluar algunas variables, como el tiempo de reacción (**Figura 8**) y variables con los ejemplos que se muestran en la (**Figura 14 A-C**). La prueba de significancia se realizó mediante permutación ($n=1000$).

En la **Figura 14** se emplearon modelos de regresión múltiple. Los datos se obtuvieron generando un histograma perievento con ventanas de 0.2s deslizantes cada 50ms y obteniendo el valor correspondiente de las variables medidas mediante interpolación

(Figura 5). Los modelos se ajustaron mediante una validación cruzada (10 veces) utilizando un término de regularización L1 (LASSO). Los valores de R2 con validación cruzada se obtuvieron a partir de los datos que no se usaron durante el entrenamiento y se presentan como la media de las 10 iteraciones.

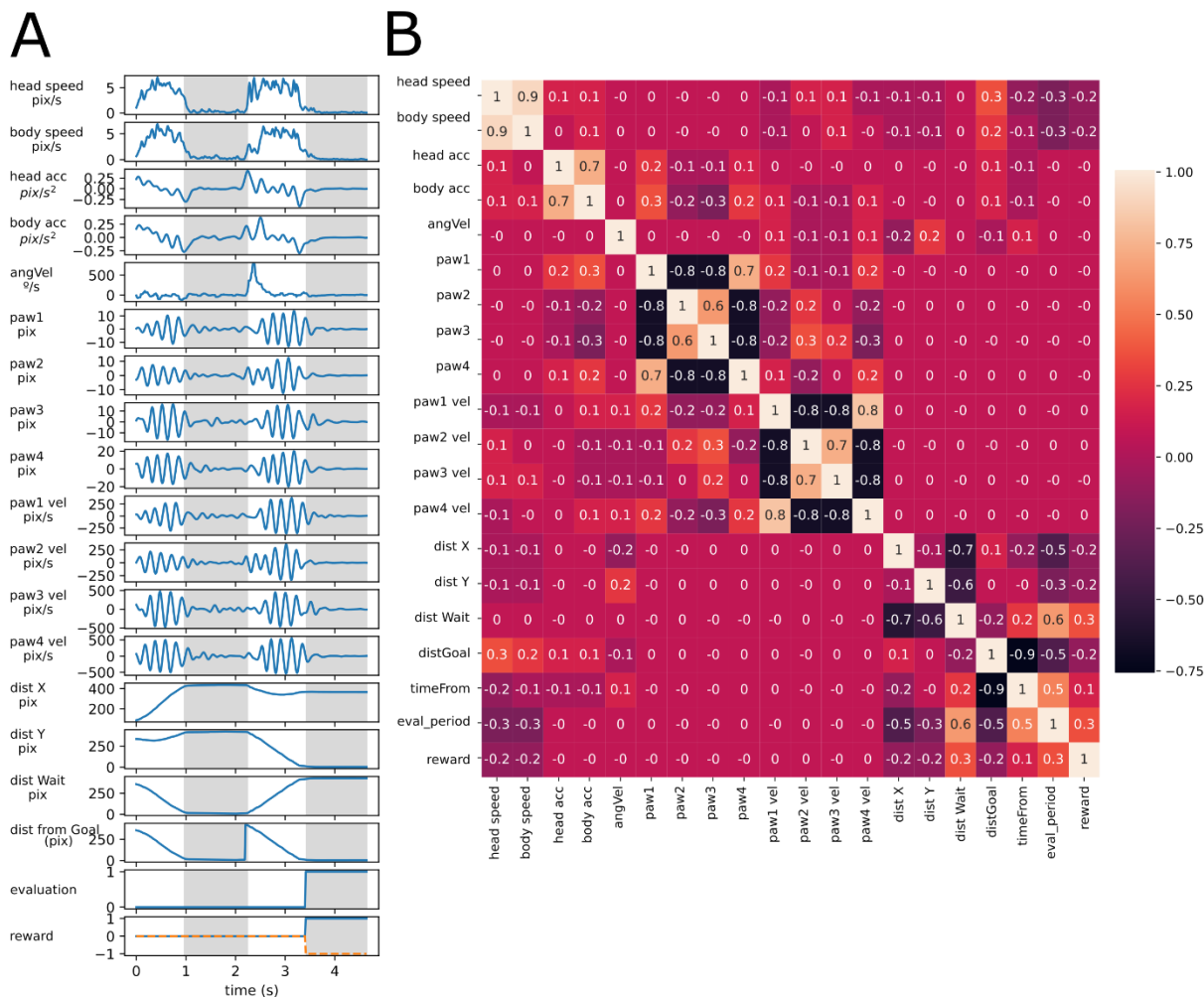


Figura 5. Ejemplo de variables utilizadas para ajustar los modelos

A. Se presentan las variables cinemáticas y espacio-temporales medidas durante un ensayo .

B. Se calculó la correlación entre las diferentes variables utilizadas.

Los análisis de coeficientes de correlación parcial (**Figura 14**) se obtuvieron ajustando un modelo reducido sin la variable a estudiar y se usaron los residuos para obtener un coeficiente de correlación. La significancia estadística de los coeficientes de correlación parcial se evaluó mediante una prueba de permutación (n=1000) al azar de los valores. Para la distancia a la meta, el modelo reducido incluyó todas las variables cinemáticas y ninguna espaciotemporal (dado su alto nivel de correlación, **Figura 5**). Para la velocidad angular, el

modelo reducido incluyó todas las variables cinemáticas y espacio-temporales excepto la variable en cuestión; para la rapidez corporal, el modelo reducido también excluyó la rapidez de la cabeza.

Para la **Figura 13**, se calculó la pérdida de poder predictivo, delta R², para cada una de las cuatro variables probadas, de manera similar a (Musall et al., 2019). Se ajustó el modelo completo, utilizando todas las variables, así como modelos reducidos. En los modelos reducidos se aleatorizó una de las cuatro variables y se realizó el ajuste nuevamente. La diferencia entre la varianza explicada por el modelo completo y el reducido es igual a la contribución (delta R²) de esa variable al modelo. Esto proporciona una métrica para la información única (no compartida por otras variables) que cada variable aporta al ajuste del modelo.

Análisis poblacionales

Se emplearon análisis a nivel poblacional varias veces a lo largo del estudio (**Figuras 11, 15, 16, 17**), utilizando procedimientos estándar del Análisis de Componentes Principales (PCA, por sus siglas en inglés) así como Análisis de Componentes Principales desmezclados (dPCA) (Kobak et al., 2016).

La construcción de las matrices para los análisis varió según el período y las condiciones utilizadas. Para la **Figura 11** se obtuvieron promedios por cada condición de para las trayectorias de Ida, durante el período de desplazamiento y evaluación: 0.3s antes del inicio del giro y 2.5s después de la llegada al puerto de recompensa. El conjunto de datos constaba de n=118 unidades registradas en 16 condiciones (8 estímulos, con respuestas correctas e incorrectas) para las que se obtuvo un histograma perievento (PETH, por sus siglas en inglés) como se describió anteriormente. Se incluyeron unidades con al menos dos ensayos por condición. Para n=5 unidades, no se registró una de las condiciones; en su lugar se utilizó una condición adyacente. La inclusión de estas unidades no alteró las conclusiones. Las respuestas se pueden clasificar por la dirección de giro (lateralidad), donde para cada estímulo las respuestas correctas e incorrectas incluyen giros hacia la derecha e izquierda. Además, para los giros a la izquierda y derecha, existe una gradación del estímulo (0, +/-0,4, +/-0,6, +/-0,8), correspondiente a la dificultad de la tarea. Así, las 16 condiciones por unidad se utilizaron para construir una matriz de NxSxDxCxT, donde N es el total de las unidades (n=118), S es el lado (2 condiciones), y D es la dificultad (4 condiciones), C son las respuestas correctas e incorrectas, y T es el tiempo.

Con esta matriz se calculó la varianza instantánea (**Figura 11A**) asociada a las variables usando las siguientes fórmulas:

$$\begin{aligned}
VarSide_{INS}(t) &= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{s=1}^2 (r^i(t, s) - r^i(t))^2 \\
VarCorrect_{INS}(t) &= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{c=1}^2 (r^i(t, c) - r^i(t))^2 \\
VarDifficulty_{INS}(t) &= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{d=1}^4 (r^i(t, d) - r^i(t))^2
\end{aligned}$$

Para el cálculo de similitud poblacional presentado en la **Figura 11H-I** se utilizó la matriz ya mencionada y se le restó el promedio independientemente de la condición para eliminar las dinámicas temporales. Luego, se usó la fórmula a continuación para todos los pares de vectores a lo largo del tiempo:

$$CS = \frac{r^i_{t1} \cdot r^i_{t2}}{\|r^i_{t1}\| \|r^i_{t2}\|}$$

Para el análisis por PCA, se construyó una matriz de covarianza obteniendo la covarianza por pares de unidades para todas las condiciones. Luego, se calcularon los valores y los vectores propios y se ordenaron según su varianza. Para las **Figuras 17, 18 y 19** se utilizaron los primeros tres componentes para proyectar las respuestas poblacionales. Para la **Figura 18** se utilizó el cuarto PC. Las proyecciones se obtuvieron calculando el producto escalar de la matriz con el vector propio en cuestión.

Para evaluar la dimensionalidad de la actividad poblacional, se compararon los valores propios obtenidos de los datos con los obtenidos con matrices en las que se aleatorizó la respuesta neural a lo largo del tiempo. Esto destruye las correlaciones dependientes del tiempo y, por lo tanto, genera componentes principales debidos al azar. Esto se realizó 1000 veces y se consideraron significativos a los componentes principales que explicaron mayor varianza contra el azar con una $p < 0.01$.

Los detalles y el procedimiento matemático para el análisis de dPCA se ha descrito previamente (Kobak et al., 2016). Este método descompone la actividad neuronal en las diferentes variables que se estudian en una tarea específica. La parte supervisada del algoritmo consiste en elegir qué variables se usarán para realizar la marginalización. La parte no supervisada del algoritmo utiliza un análisis similar al de PCA en las matrices de varianza marginalizadas. Los análisis realizados en este trabajo se basaron en gran medida en una implementación del algoritmo en Python (disponible en <https://github.com/machenslab/dPCA>). En la **Figura 11** se marginalizó la actividad de la población en el tiempo (dinámicas independientes de la condición), Lado, Dificultad y Correcto vs incorrecto.

El análisis de dPCA presentado en la **Figura 17** se realizó de manera similar a aquél en la **Figura 11** pero utilizando diferentes períodos de tiempo y condiciones. El objetivo era entender las dinámicas poblacionales que explicaran las diferencias poblacionales entre la ida y el Regreso. Por esto, se buscaron trayectorias de ida y regreso que fueran altamente similares desde un punto de vista motor.

Para cada sesión se generó una trayectoria modelo para las trayectorias de ida, izquierda y derecha, promediando la rapidez de desplazamiento y la velocidad angular. Esta trayectoria modelo se usó para comparar las trayectorias tanto de ida como de Regreso de ensayos individuales. Se seleccionaron aquellas trayectorias de ensayos individuales con un coeficiente de correlación ≥ 0.75 . Finalmente, se obtuvieron histogramas perievento para las trayectorias seleccionadas.

Para cada unidad se obtuvieron cuatro condiciones: regreso izquierda, regreso derecha, ida izquierda, ida derecha. Con esto se construyó una matriz $N \times C \times S$ donde N son unidades ($n=118$), C es contexto (2 condiciones, Regreso e Ida) y S el lado (2 condiciones, izquierda y derecha). Por lo tanto, las marginalizaciones se realizaron sobre la base de estas dos variables y el tiempo (dinámicas independientes de condición), principalmente para extraer la dinámica poblacional contextual (Regreso vs Ida).

Análisis de acoplamiento de la actividad neural a conductas cíclicas

Se analizó cómo la actividad unitaria se relacionó con dos comportamientos cíclicos: la marcha y la conducta de lengüeteo. Para la marcha, se calculó la posición de la pata proyectando la posición al eje longitudinal del ratón. Se encontraron ciclos de marcha individuales al buscar los picos de la señal (**Figura 18**). Se usaron períodos de movimiento que tuvieran al menos 4 ciclos/pasos. Se aplicó un filtro de paso de banda (3-6Hz) a la señal y se extrajo la fase instantánea mediante una transformada de Hilbert. Luego, se calculó la fase en una ventana de 400ms alrededor de cada pico (esto incluye alrededor de 2 ciclos de marcha). Se generó un histograma de la fase al momento de cada disparo de cada unidad estudiada. Esto se hizo con la pata trasera contralateral al hemisferio registrado, puesto que las patas traseras tienen mayor amplitud que las patas delanteras. Se calculó el vector promedio y se probó significancia direccional con la prueba Rayleigh para cada uno de los ocho pasos analizados (**Figura 19**). La fase y la magnitud promedio se calculó en cada paso se calcularon promediando los componentes individuales de los ejes x y y.

Para la conducta de lengüeteo, se calculó la probabilidad de lengüetear alrededor de un lengüeteo individual y se aplicó un filtro de paso de banda de 4-10Hz. Esta señal se usó para calcular la fase a la que cada disparo ocurrió en una ventana de 400ms (alrededor de 2 ciclos) de una manera semejante a lo que se realizó con la marcha.

Entrenamiento de máquinas de vectores de soporte (Support vector machines)

Para comprender si la actividad poblacional podría estar almacenando la información de varias variables simultáneamente, se entrenaron SVMs utilizando la implementación en scikit (Pedregosa et al., 2011). Para el período de estudio de la marcha, se utilizó la misma matriz creada para la reducción de dimensiones. Cada vector en el tiempo, que contiene $n=118$ promedios unitarios, se etiquetó de acuerdo a las variables analizadas: contexto, número de paso, posición de la pata y velocidad de la pata. Cabe señalar que las señales continuas (posición y velocidad) se redujeron a 5 estados para permitir el entrenamiento por validación cruzada (10 veces). Para evaluar la significancia estadística, se repitió este procedimiento con las etiquetas aleatorizadas ($n=1000$) y se evaluó la probabilidad de una mayor precisión del modelo original. Como no se pudo decodificar la velocidad a partir de la matriz original, se calculó la matriz ponderada por el PC4 obtenido durante la descomposición por componentes principales (**Figura 19**).

Para la conducta de lengüeteos, se empleó la misma matriz utilizada en el PCA (para de la cuál se muestra en la **Figura 20**) y modelos entrenados en: la fase de lengüeteo, lengüeteos izquierda y derecha, el número de lengüeteo, y lengüeteos correctos e incorrectos. Para evaluar la significancia estadística se utilizó un procedimiento semejante al ya descrito.

RESULTADOS

Puesto que el principal interés de este estudio radica en cómo la actividad neural del EPN codifica variables cinemáticas y aquellas relacionadas con la recompensa, se estandarizó una tarea conductual acorde y se registró la actividad del núcleo. Los resultados de este estudio han sido publicados en una revista indizada (Verma-Rodríguez et al., 2024).

Los ratones pueden realizar una tarea psicofísica basada en estímulos auditivos de frecuencia modulada

Si bien se ha mencionado que el objetivo principal de este estudio fue establecer la relación entre la actividad del núcleo EPN y variables cinemáticas durante la locomoción de los ratones, estudios previos han determinado que la recompensa es una variable que está bien representada en este núcleo. Por lo mismo, se diseñó una tarea que pudiera evaluar ambos aspectos.

Se ideó una tarea en la que los animales debían desplazarse a diferentes esquinas de una arena triangular (lado=35cm). Un ensayo iniciaba cuando el sujeto se trasladaba hacia la Esquina de Espera en donde debía esperar alrededor de 1 segundo para que se reprodujera un estímulo auditivo. Este estímulo auditivo indicaría a cuál otra esquina el animal debía trasladarse para poder recibir una recompensa de agua. Si el animal introducía su cabeza en el puerto de la esquina apropiada se consideraba como una respuesta correcta y se liberaba una gota de agua (de 3 microlitros). Las respuestas incorrectas se señalizaban mediante una atenuación de las luces ambientales durante 10 a 20 segundos. Los animales iniciaban un ensayo siguiente (trasladándose a la Esquina de Espera) a su propio ritmo. Puesto que se realizaron grabaciones de video, se pudo realizar un seguimiento del animal usando DeepLabCut, un algoritmo basado en una red neuronal profunda (Deep neural network), que permite seguir cuadro a cuadro partes preseleccionadas del ratón, como su nariz, las patas, entre otras. Esto permitió medir varias variables en cada ensayo, como la distancia entre el animal y las diferentes esquinas, la velocidad angular del animal. Esto permitió establecer diferentes eventos de la tarea, en particular dos periodos distintos de movimiento: trayectorias de retorno para llegar a la Esquina de Espera) y trayectorias de ida (para llegar a la esquina de recompensa).

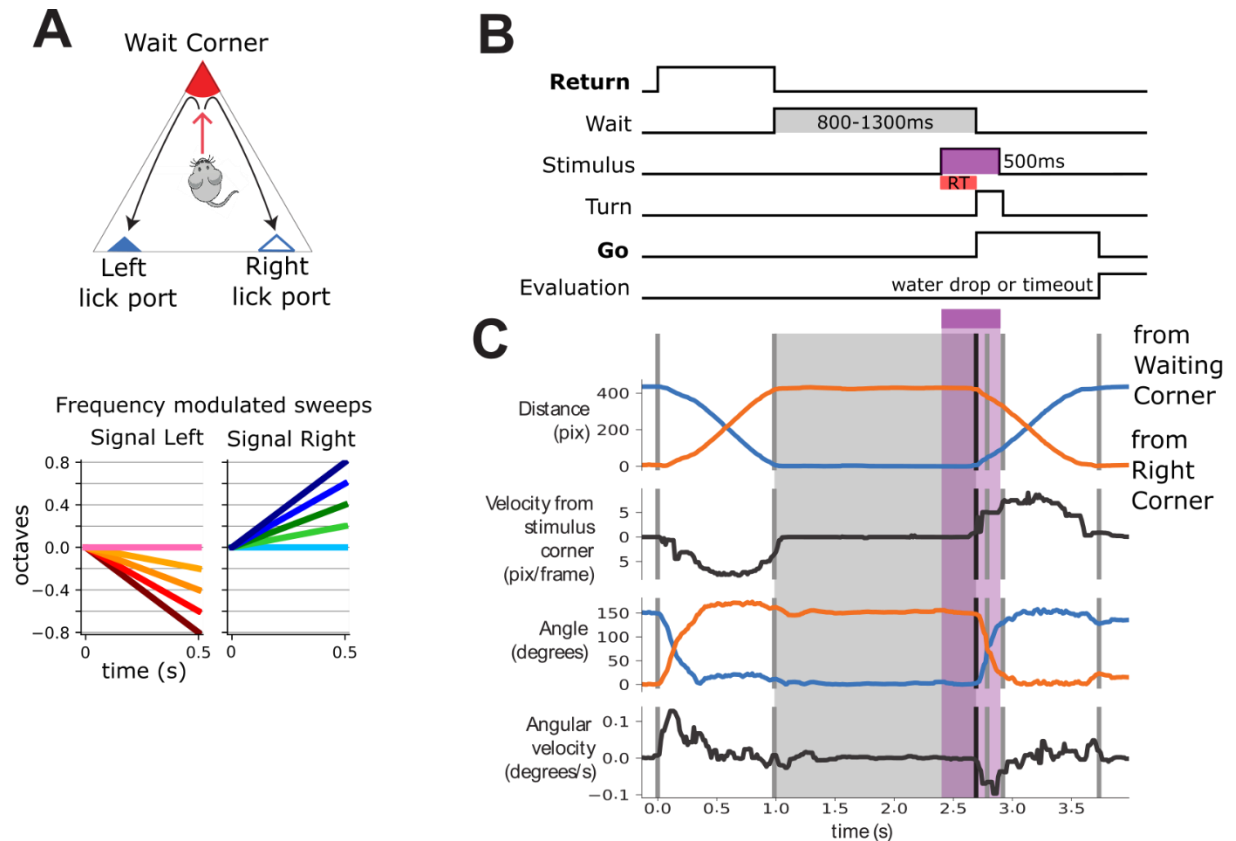


Figura 6. Tarea conductual de decisión forzada con 2 alternativas en ratones en libre movimiento.

A. (Arriba) Se colocó a ratones en una arena triangular, donde una esquina se designó como la Esquina de Espera y las otras dos tienen puertos para liberar una recompensa líquida.

(Abajo) Se presenta una gráfica que ilustra a los estímulos auditivos: rampas moduladas por frecuencia a lo largo del tiempo. Las rampas que decrecientan en frecuencia señalizan que el ratón debe desplazarse al puerto izquierdo.

B. Esquema de los eventos de la tarea.

C. Trazos de variables cinemáticas y espaciales que se extraen del video a través del seguimiento usando DeepLabCut (Mathis et al., 2018)

En este estudio se utilizaron estímulos auditivos que consistieron en barridos de frecuencia modulada de una duración de 0.5 segundos. La modulación de la frecuencia de manera ascendente o descendente indicaba que el animal debía elegir la esquina derecha e izquierda, respectivamente. El objetivo de variar la velocidad a la que se modulaba la frecuencia fue modular la certeza con la que los animales realizaban la decisión. Esto se evidencia con el ajuste de una curva psicométrica de la probabilidad de respuesta en función de la velocidad de modulación del estímulo (ΔFreq). Note que el estímulo central era un tono puro que no contenía información de lado y se recompensaba

aleatoriamente a la derecha o izquierda. La respuesta psicofísica de los animales es reproducible en una sesión aislada, antes y después del implante del electrodo de registro, así como en varios animales (**Figura 7**).

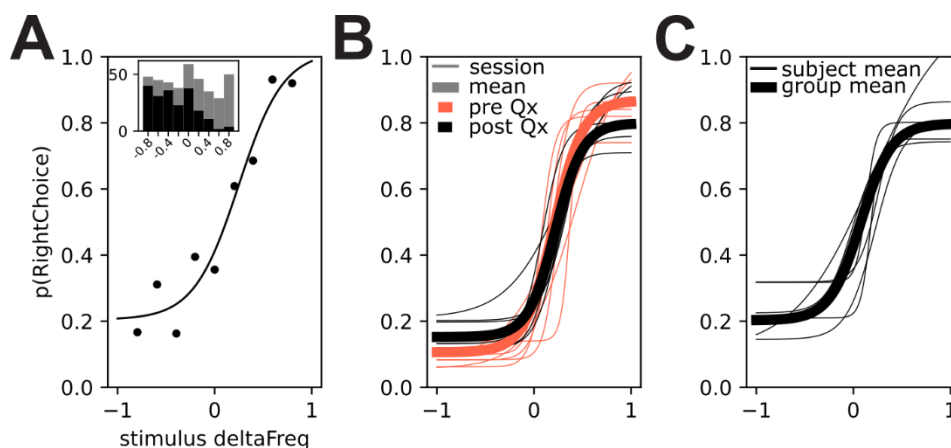


Figura 7. Los sujetos realizan respuestas psicofísicas ante los estímulos.

A. Sesión ejemplo probabilidad de respuesta de una sesión de un animal ante los estímulos. El trazo corresponde al ajuste de una función sigmoidea. El recuadro muestra el histograma de ensayos (negros cuando el animal respondió a la izquierda y grises a la derecha).

B. Ejemplo de curva psicofísica de 1 animal antes y después del implante del electrodo. Trazos finos son días individuales mientras que los gruesos corresponden a promedios. Naranjas son antes de cirugía, negros después.

C. Promedio por animal (trazos finos) y poblacional.

Se buscó determinar la influencia que los las características de los estímulos auditivos tuvieron sobre el tiempo de respuesta y la manera en que los animales realizaban su movimiento. Cabe destacar que los pares de estímulos con cambio de frecuencia más alta (± 0.8) son más fáciles que aquellos con menos (± 0.4) o ninguna. Por otro lado, el par de estímulos ± 0.2 se eliminó de algunas sesiones para aumentar los ensayos por condición y no se analizará más adelante. Se definió al tiempo de respuesta como el tiempo transcurrido desde el inicio del estímulo auditivo hasta el inicio del giro (**Figura 6B-C**) puesto que es el momento en el que los animales se habían comprometido con una acción motora. Se encontró una correlación significativa entre el tiempo de respuesta y la dificultad del estímulo (coeficiente de correlación $r=0.89$, $p<0.01$, **Figura 8A**).

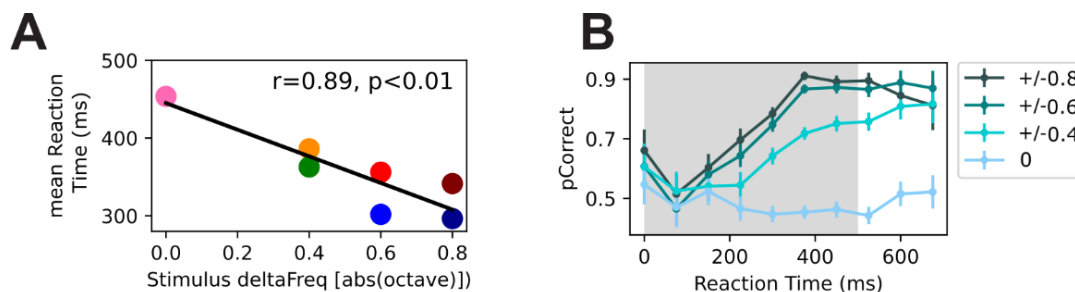


Figura 8. La dificultad del estímulo afecta al tiempo de respuesta, y presenta características de acumulación de evidencia.

A. Tiempo de reacción promedio como función de la el cambio en frecuencia (deltaFreq) del estímulo.

B. Probabilidad de responder correctamente en función del tiempo de reacción. Se agrupan a los estímulos en función del absoluto de deltaFreq. La probabilidad de respuesta correcta se computó en bins de tiempo de reacción de 75ms.

El diseño de los estímulos del paradigma conductual permite preguntar cómo la decisión es influenciada por el tiempo que los sujetos escuchan al estímulo, un fenómeno conocido como acumulación de evidencia. La hipótesis de este fenómeno destaca que si el sujeto toma una decisión con más información disponible, la decisión será mejor. Para analizar esto, se calculó la probabilidad de respuesta correcta en función del tiempo de respuesta, agrupando los ensayos según su tiempo de respuesta (bin=75ms) y por la dificultad del estímulo (**Figura 8B**). Para el estímulo central (tono puro, sin información de lado) no existe un incremento en el desempeño a mayor tiempo de espera, como es esperado. Por otro lado, los pares de estímulos que sí tenían la frecuencia modulada a través del tiempo (+/- 0.4, +/-0.6, +/-0.8) muestran un incremento gradual en la probabilidad de acertar en tanto presentan un tiempo de espera mayor. Asimismo, los estímulos más fáciles llegan a la saturación en un tiempo menor.

A continuación, se buscó entender cómo la dificultad de los estímulos auditivos pudo modular el movimiento de los animales. Se hipotetizaba que ante mayor dificultad de los estímulos, menor certeza en la decisión, y que esto ocasionaría movimientos más lentos. Se calculó la velocidad angular instantánea a lo largo de los 150° de giro hacia ambos lados en función de la dificultad de los estímulos (**Figura 9A**). Esto muestra que en efecto existe una graduación entre la dificultad y la velocidad, cosa que se corroboró al encontrarse una correlación significativa entre la velocidad angular promedio y el deltaFreq de los estímulos (**Figura 9B**). Esto es verdad sólo para los ensayos con respuesta correcta, no así con los incorrectos. Por otro lado, se realizó un análisis similar para la rapidez de desplazamiento a lo largo de la trayectoria de los animales (**Figura 9C**). Aunque los animales sí se desplazaban

con mayor velocidad en los estímulos más fáciles, no se encontró una correlación significativa entre la dificultad del estímulo y la rapidez.

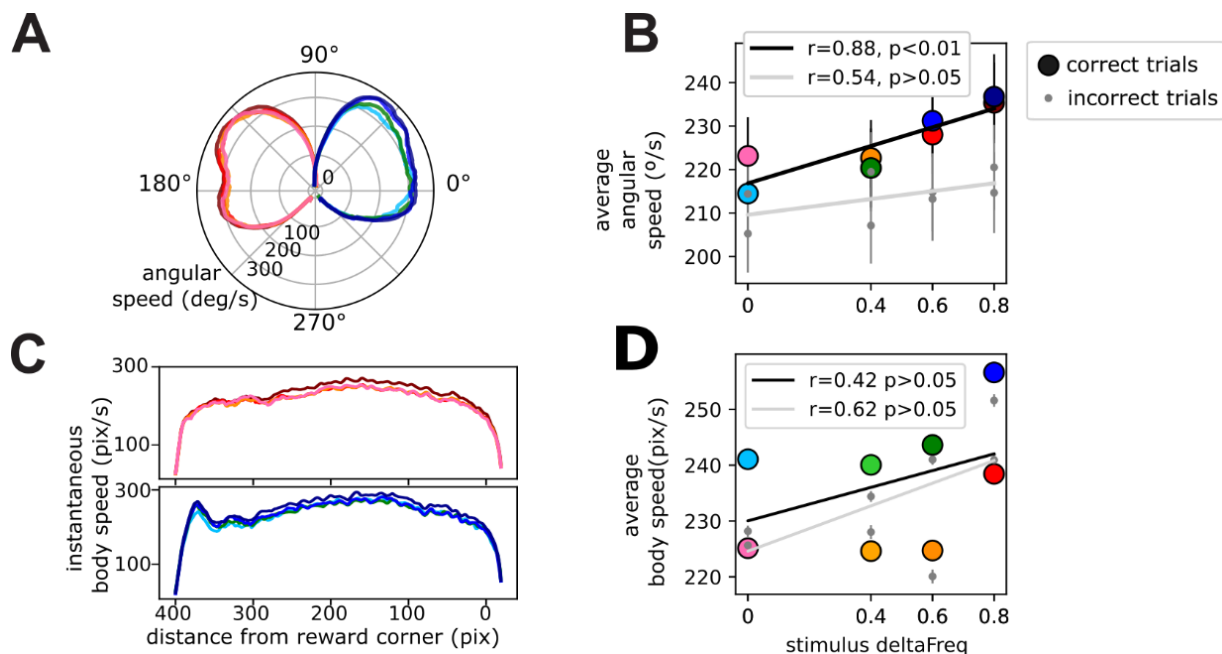


Figura 9. La dificultad de los estímulos afectó la manera en la que los animales realizaban su giro.

A. Rapidez angular instantánea (eje radial) durante el giro de los animales por estímulo auditivo. El vector hacia 90° representa la posición del animal durante la espera.

B. Rapidez angular promedio por estímulo auditivo para los ensayos correctos e incorrectos. Se incorporaron ajustes lineales.

C. Rapidez de desplazamiento instantánea para las trayectorias hacia la izquierda y derecha.

D. Rapidez promedio por estímulo presentado. Se dibujaron los ajustes lineales

El desempeño de los animales en esta tarea conductual permite concluir que éstos son capaces de realizar una conducta psicofísica basada en barridos de frecuencia modulada. La dificultad de los estímulos tiene influencia en la manera en la que los animales toman la decisión. Además, la dificultad tuvo impacto sobre cómo los animales realizaban el giro, pero no durante la locomoción.

Registros electrofisiológicos en el núcleo entopeduncular

Tras un período de desempeño constante en el paradigma conductual de al menos 2 semanas, se realizó el implante de los electrodos colocados sobre el núcleo entopeduncular. Estos consistían en cables aislados muy finos (32 micrómetros de grosor)

movibles que se avanzaron en pasos de 50 micrómetros. Tras el análisis histológico post mortem de los cerebros se infirió la posición de los registros y se incluyeron para análisis posterior únicamente aquellas que se registraran dentro del EPN. Estudios anteriores han descrito que existen dos poblaciones neurales genética y anatómicamente diferenciables (Stephenson-Jones et al., 2016; Wallace et al., 2017), que muestran diferencias en el coeficiente de variación de los intervalos inter-espiga, así como en la duración del potencial de acción. Así, calculamos estas dos variables para las neuronas registradas en este estudio, pero no encontramos que se pudieran separar en dos grupos bien definidos.

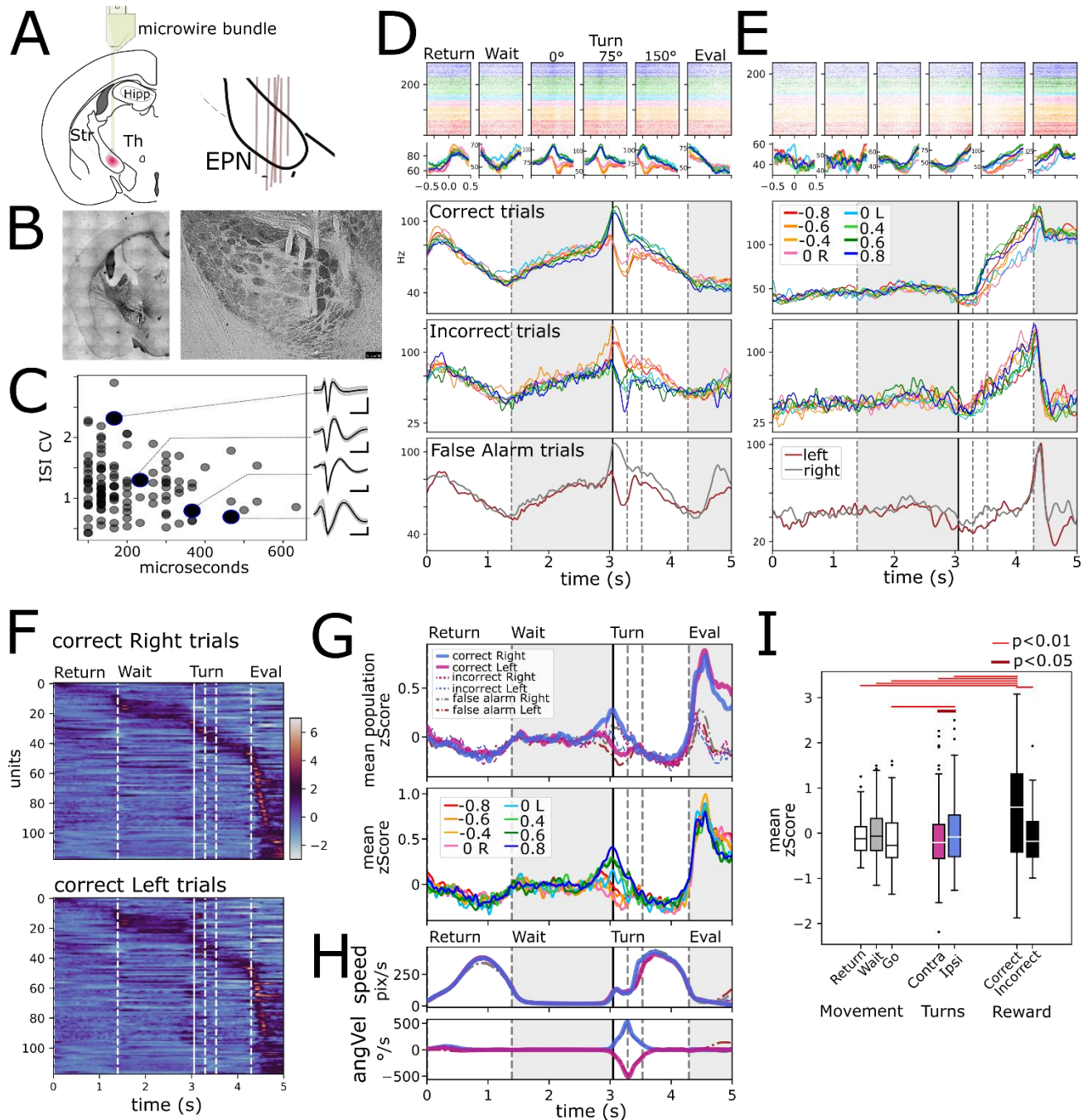


Figura 10. Se obtuvo registros electrofisiológicos del EPN.

A. Se implantaron grupos de electrodos (alambres muy finos, 32micras de grosor) sobre el núcleo entopeduncular. El esquema de la derecha muestra

B. Izquierda: Fotomicrografía del trayecto de la cánula del electrodo. Derecha: Ampliación correspondiente al EPN. Se muestran los trazos que dejaron los alambres individuales en su trayecto a través del núcleo.

C. Características electrofisiológicas de las espigas registradas. Tiempo de pico a valle graficado contra el coeficiente de variación del intervalo inter espiga. Se muestran los trazos de cuatro ejemplos de espigas.

- D.** Ejemplo de actividad de una unidad. Se utilizan los eventos de la tarea para alinear la actividad: Regreso, Espera, Vuelta (0° , 75° y 150°), Evaluación. Se promedian según la identidad del estímulo auditivo presentado. Primera fila muestra el promedio reescalado para los ensayos correctos. La segunda fila muestra el promedio para los ensayos incorrectos. La tercera fila el promedio para los ensayos Falsa Alarma; en estos ensayos los animales salieron de la esquina de espera antes de que se presentara el estímulo auditivo y realizaron la secuencia completa de movimiento, para la derecha e izquierda.
- E.** Lo mismo que en D pero para otra unidad ejemplo.
- F.** Se presenta la respuesta de las neuronas registradas para los ensayos hacia la derecha y hacia la izquierda.
- G.** Arriba: Promedio normalizado (z-Score) de todas las neuronas segregando para ensayos derechos, izquierdos, correctos, incorrectos y falsas alarmas.
Abajo: Promedio poblacional de actividad normalizada para los ensayos correctos segregados por la identidad del estímulo presentado.
- H.** Promedio de velocidad de desplazamiento (arriba) y velocidad angular (abajo) para los ensayos segregados de la misma manera que en G, arriba.
- I.** Promedio de actividad poblacional segregando por época según movimiento, giro y recompensa.

La actividad neural adquirida fue alineada a los eventos relevantes de la tarea. Estos fueron: inicio del regreso, espera, giro y evaluación. Note que el giro fue descompuesto en 3, el inicio, (0°), la mitad (75°) y el fin (150°). La fila superior de la **Figura 10 D-E** muestra los gráficos tipo ráster alineados a los eventos ya mencionados. Puesto que esta tarea conductual es en libre movimiento, los intervalos intereventos no son exactamente iguales. Por lo mismo, se procedió a realizar un reescalamiento de la actividad (ver Metodología) para generar los histogramas perievento que se muestran en las tres filas inferiores de la **Figura 10 D-E**. Los ensayos fueron promediados según el estímulo presentado y si fueron correctamente respondidos o no, así como ensayos llamados falsa alarma. Los ensayos de falsa alarma corresponden a ocasiones en las que los animales no esperaron el tiempo suficiente para que se reprodujera el estímulo auditivo y realizaron la trayectoria de ida generando una salida motora idéntica pero llevados a cabo sin una instrucción externa.

En la **Figura 10 D-E** se muestran 2 ejemplos de las neuronas registradas. La unidad en la **Figura 10 D** muestra una frecuencia de disparo decreciente en tanto a que el tiempo/distancia entre el animal y el objetivo de su trayectoria disminuía tanto en las trayectorias de Regreso (en la que los animales llegaban a la esquina de espera) como en las de ida (llegar a las esquinas de recompensa). Esta unidad muestra adicionalmente actividad diferencial que separa a los giros derechos e izquierdos, tanto en los ensayos correctos como en los incorrectos y en los de falsa alarma. El segundo ejemplo que se muestra en la **Figura 10 E** exhibe una marcada diferencia en la frecuencia de disparo entre

las trayectorias de regreso y en las de ida (sin cambios y con actividad en rampa, respectivamente). Adicionalmente, esta unidad muestra actividad diferencial entre los ensayos recompensados y los no recompensados.

Los mapas de calor en la **Figura 10F** muestran las respuestas promedio de todas las unidades registradas (118 de 6 animales) para los ensayos correctos izquierdos y derechos. Están ordenadas según el pico de actividad para los ensayos hacia la derecha. Note como incluso si las neuronas se ordenaron según los ensayos derechos, la actividad de la población en los ensayos izquierdos muestra respuestas similares. El panel **G** de la **Figura 10** muestra la actividad promedio (en zScore) promediada según el lado de giro y según el resultado de los ensayos (correctos, incorrectos y falsas alarmas). Las mediciones cinemáticas de rapidez y velocidad angular se muestran en el panel **H** de la **Figura 10** segregados según las mismas condiciones. Estos promedios poblacionales muestran que existe una codificación poblacional asociada la vuelta y a la recompensa. Cuando se segregan las respuestas neurales según la identidad de los estímulos auditivos (**Figura 10 G, abajo**) se preserva la representación del lado de la vuelta, pero las diferencias entre estímulos son marcadamente bajas.

Se buscó evaluar cómo el promedio de la actividad poblacional podría estar representando movimiento, giro y recompensa. Por lo mismo, se obtuvieron promedios de los periodos temporales correspondientes a regreso, espera e ida y se concluyó que no existen diferencias estadísticamente significativas. La población mostró mayor actividad durante giros ipsilaterales comparados con los contralaterales al sitio de registro (hemisferio derecho, **Figura 10 I**). Sin embargo, de todas las condiciones, el período de evaluación durante los ensayos recompensados fue el que exhibió la mayor actividad. A pesar de que hay una tendencia a la baja durante los períodos de movimiento, no se pudo corroborar que existiera una diferencia estadísticamente significativa entre los períodos de movimiento (Ida y Regreso) con el período de inmovilidad de espera (**Figura 10I**).

Análisis poblacional del EPN revela codificación para recompensa, izquierda y derecha pero no valor

Uno de los primeros objetivos fue buscar la codificación para valor y recompensa, debido a que se ha documentado en estudios previos tanto en roedores (Stephenson-Jones et al., 2016) como en primates (Hong & Hikosaka, 2008). Asimismo, se ha sugerido que el GPi puede codificar la posición espacial de recompensas esperadas. Para intentar comprender cómo la población estaba representando estas variables, se calculó la varianza instantánea

asociada a los ensayos correctos e incorrectos, derecha e izquierda, así como a los estímulos. En la **Figura 11A** se muestra que existe un incremento en la varianza asociada a los ensayos correctos e incorrectos durante el período de evaluación. La varianza asociada a izquierda y derecha aumenta durante el período de giro. Interesantemente, la varianza asociada a la dificultad de los estímulos es notablemente baja.

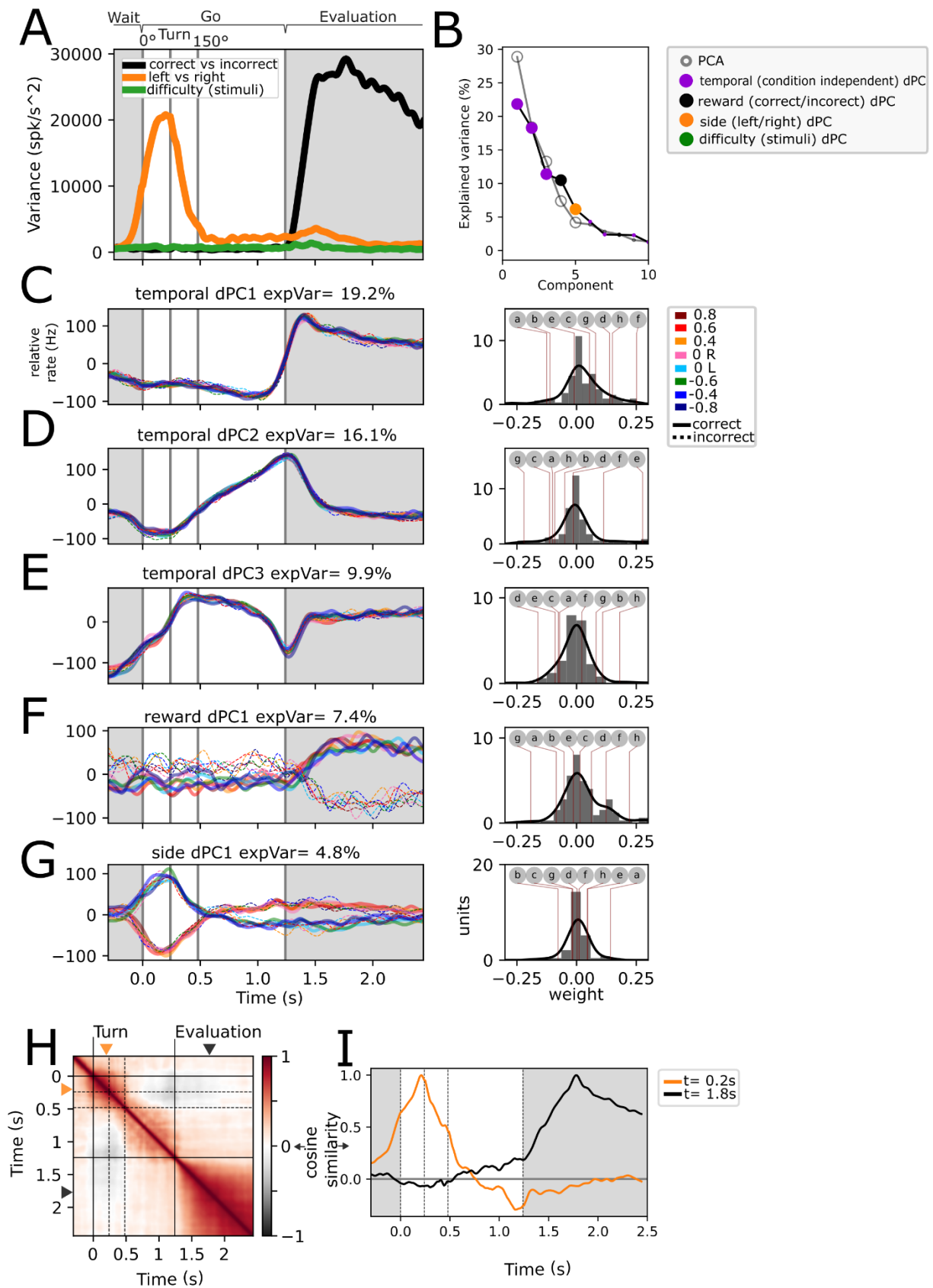


Figura 11. Dinámicas poblacionales correspondientes a estímulo, giro, recompensa y tiempo en trayectorias de Ida.

A. Varianza instantánea asociada a los ensayos segregados según izquierda-derecha (giro), correcto/incorrecto, y la identidad del estímulo.

B. Varianza explicada por los Componentes Principales (PCA) y los Componentes Principales demixados (dPCA). Note que la dificultad no aparece entre los primeros 10 componentes. Los componentes estadísticamente significativos son señalados por un punto más grande.

C-G. Los primeros 5 componentes (dPCA) ordenados según la varianza explicada por cada uno:

Temporal (independiente de condición), Recompensa y lado. Note que para los trazos en C-E hay una superposición casi perfecta entre todas las condiciones ($n=16$). Los histogramas de pesos que las neuronas individuales tienen sobre este componente. Se señalan sobre el histograma 8 ejemplos individuales que se muestran en la siguiente figura (**Figura 12**).

H. Autosimilitud de la matriz poblacional a través del tiempo. Se calculó la similitud (el coseno del ángulo entre vectores poblacionales pareados) en la actividad poblacional a la que se le sustrajo el promedio independiente de condición (se eliminaron las dinámicas temporales, ver Metodología).

I. Similitud de vectores poblacionales a través del tiempo para dos puntos en el tiempo ($t=0.2s$ y $t=1.8s$) que corresponden a los momentos con mayor información sobre las variables de lado y recompensa, respectivamente.

Para comprender la dinámica poblacional asociada a estos parámetros de la tarea, se realizó un análisis de componentes principales desmezclados (demixed Principal Component Analysis, (Kobak et al., 2016)). Esto permite generar un espacio de baja dimensión que capture la varianza asociada a los parámetros específicos de la tarea: dinámica temporal independiente de condición, ensayos correctos e incorrectos, dificultad del estímulo y lado (izquierdo y derecho) de giro. Hipotetizamos que las dinámicas temporales independientes de condición incluirían relaciones cinemáticas, mientras que las marginalizaciones en correcto/incorrecto incluirían señales de recompensa; la marginalización izquierda/derecha mostraría actividad relacionada con la velocidad angular, y la marginalización de dificultad (la segregación relacionada al $\Delta Freq$ de los estímulos auditivos) mostraría una gradación relacionada con el valor de la acción.

Tras realizar el análisis de dPCA y ordenar los componentes extraídos según el porcentaje de varianza total explicada encontramos que los primeros tres componentes son independientes de condición (temporales) como se muestra en la **Figura 11B**. Además, sólo cinco componentes principales son estadísticamente significativos (ver Metodología). La dinámica más destacada, el dPC1 temporal, que explica el 19.2% de la varianza total, separa al período de evaluación del resto de la tarea con una función similar a una función

escalonada. El panel derecho de las **Figuras 11C-G** muestra los pesos que las unidades individuales tienen sobre la dinámica. Se muestran ejemplos de neuronas individuales con sus respectivos pesos etiquetados en los histogramas. El segundo dPC temporal (16.1% de la varianza total) muestra actividad en rampa durante el período de movimiento de Ida que podría estar codificando el tiempo o la distancia hasta la meta. La tercera proyección temporal (dPC3) exhibe una dinámica trifásica durante el período de movimiento, que potencialmente podría correlacionar con la velocidad de la trayectoria del animal.

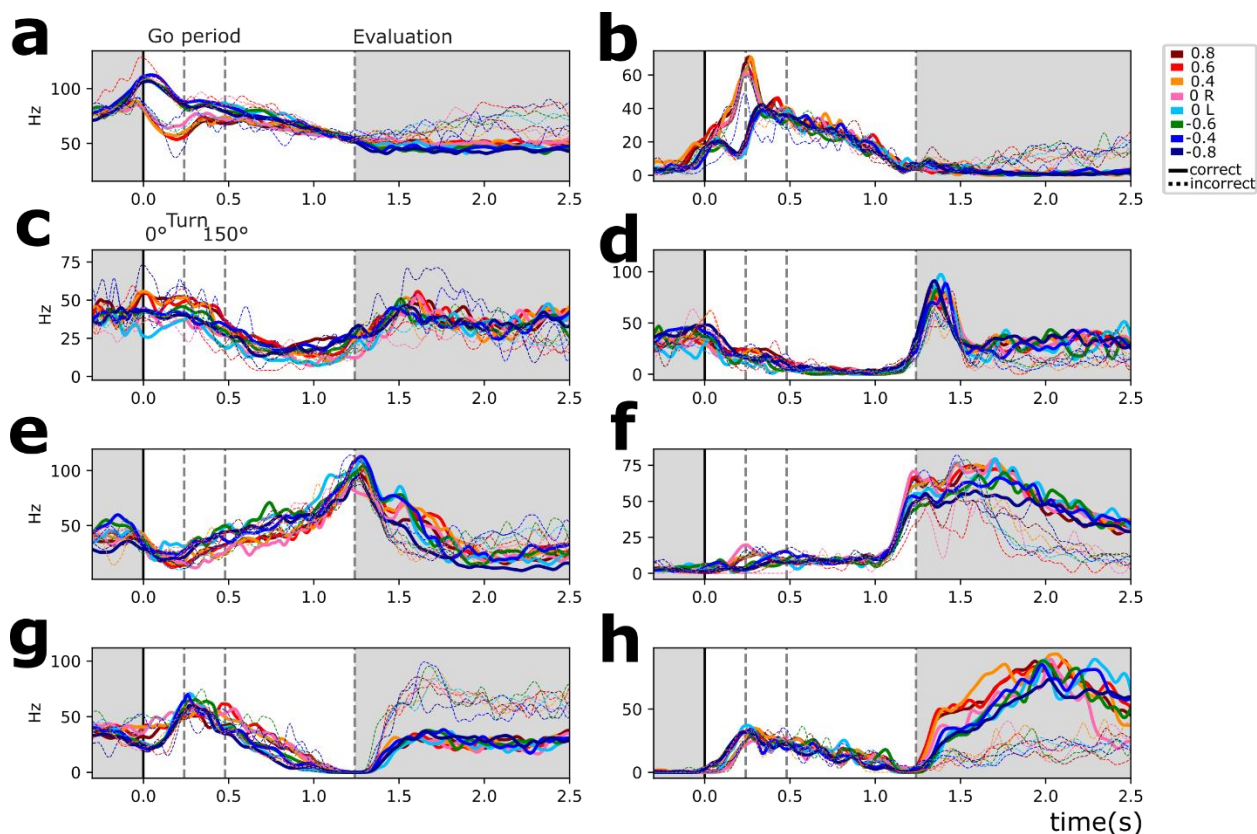


Figura 12. Ejemplos individuales de neuronas del EPN registradas durante la tarea.

Note que la letra de los incisos corresponde a las letras marcadas sobre los histogramas en el análisis de dPCA mostrado en la figura anterior (**Figura 11**).

Los dPC cuarto y quinto corresponden a correcto/incorrecto y lado derecha/izquierda respectivamente. Como se esperaba, el dPC correcto/incorrecto separa a los ensayos correctos e incorrecto durante el período de evaluación (**Figura 11F**). Por otro lado, el dPC lateral es máximamente diferente durante el período de giro (**Figura 11G**). Cabe destacar que para ambos, dPC4 y dPC5, los pesos son simétricos alrededor de cero; es decir, hay unidades que son pesadas de manera positiva y otras de manera negativa sobre esta dinámica. Esto implica que unidades pueden recompensar recompensa como un aumento de actividad o como una disminución de esta (**Figura 11 F**). De manera similar, los giros

ipsilaterales se pueden codificar como una disminución o un aumento de la actividad (**Figura 11 G**).

Interesantemente, la marginalización sobre la variable dificultad (estímulos) no produjo un dPC significativo. Este hecho aunado a la baja varianza asociada a la dificultad sugiere que la codificación de valor no está bien representada en este conjunto de datos.

Por otro lado, al comparar ensayos correctos e incorrectos, en donde sí hubo una presentación de estímulo auditivo, con ensayos de falsa alarma (sin estímulo), algunas unidades presentan actividad relacionada asociada al estímulo (**Figura 13**). Por lo mismo, se buscó evaluar más a fondo si la actividad relacionada al estímulo podría estar representando valor o dificultad. Así, se probaron cuatro hipótesis sobre lo que la actividad peri-estímulo podría estar representando: la sola presencia del estímulo, la dificultad del estímulo, lo que el animal interpretó del estímulo (girar correcta o incorrectamente hacia la derecha o la izquierda) o simplemente la velocidad angular (**Figura 13C**). Para cada una de estas suposiciones, se calculó el delta R², que mide cuánto mejora la bondad del ajuste al considerar cada variable en cuestión versus sólo las demás (ver Metodología). Este análisis muestra que incluir información sobre la dificultad o la interpretación explica peor la actividad que la sola presencia de estímulos. Además, la variable que mejor describe la actividad en este período es la velocidad angular.

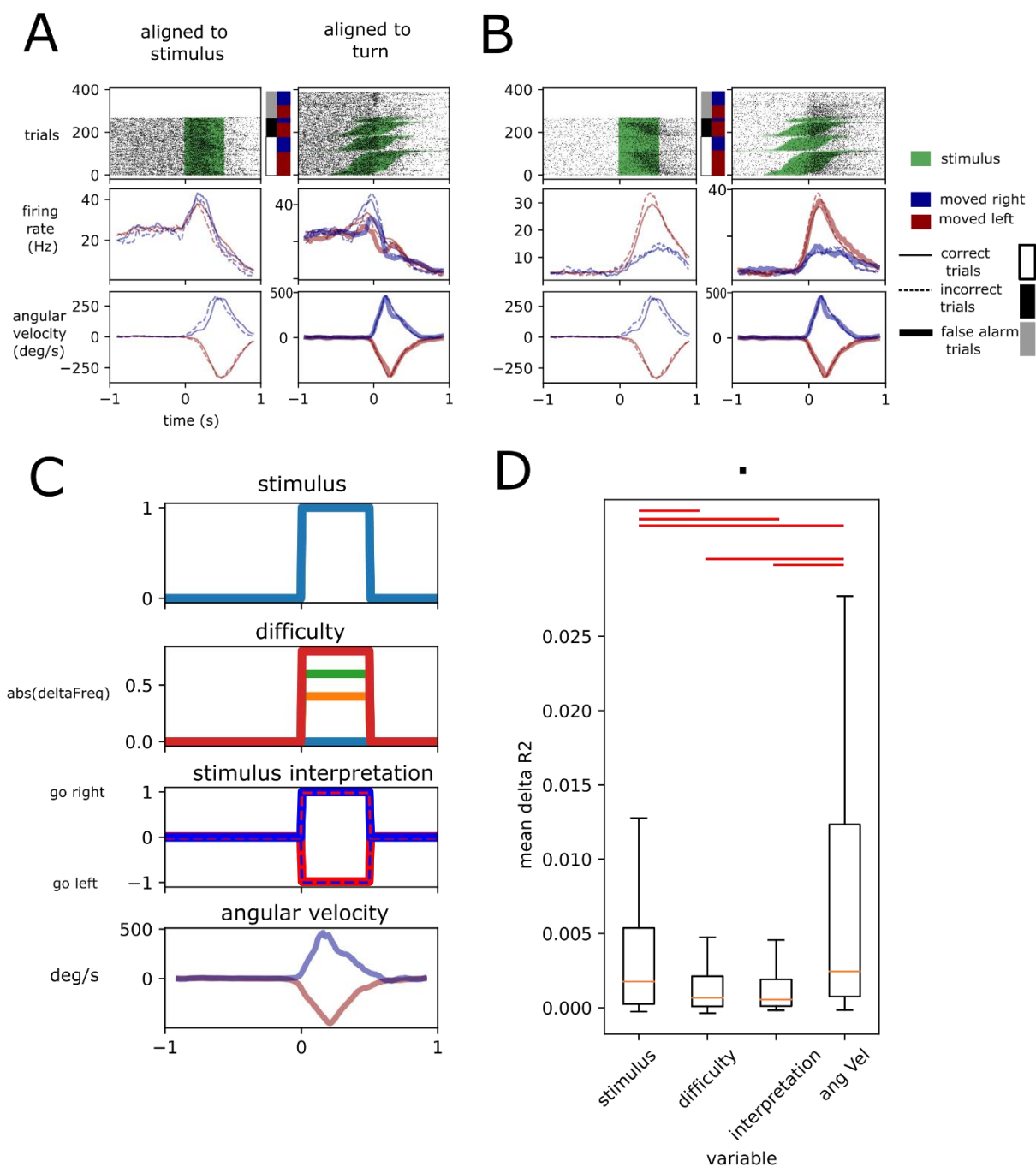


Figura 13. La presencia del estímulo, sin importar la identidad, y la velocidad angular explican mejor la actividad del EPN alrededor del período de vuelta.

A. Se muestra una unidad ejemplo alineada al momento de presentación de estímulo (izquierda) y al momento de la vuelta (derecha), segregando ensayos por giro izquierdo y derecho, ensayos correctos, incorrectos y falsa alarma. Note que la columna a la izquierda no contiene ensayos falsa alarma puesto que éstos no tienen estímulo auditivo.

B. Otra unidad ejemplo.

C. Modelos que se usaron para ajustar los datos. Se plantean cuatro hipótesis. La primera fila es la presencia del estímulo (sin importar identidad). La segunda fila es dificultad (el absoluto del cambio en frecuencia de los estímulos). La tercera es la interpretación del estímulo (los ensayos incorrectamente interpretados se muestran opuestos a los correctamente interpretados). La cuarta fila muestra la velocidad angular.

D. ΔR^2 (ver Metodología) calculada para cada uno de los modelos. Las diferencias estadísticas se muestran con líneas rojas ($p < 0.05$, prueba de Wilcoxon).

Para evaluar cómo la codificación de lateralidad (giro) y de recompensa podrían correlacionarse o covariar entre sí, se calculó la autosimilitud de la población a lo largo del tiempo (**Figura 11H-I**). Esta autosimilitud se calculó a partir de las respuestas poblacionales a las que se les hubo sustraído el promedio temporal (condición-independiente). Se encontró que el periodo de evaluación es bastante independiente del periodo de ida, y la interacción entre ellos es muy baja (**Figura 11H**). Se evaluó la similitud del vector poblacional en los puntos temporales de mayor varianza de lateralidad y de recompensa ($t=0.2s$ y $t=1.8s$, respectivamente, **Figura 11 I**) contra el resto del tiempo. Esto muestra que el giro y la codificación de recompensa están desacoplados.

Los análisis presentados muestran que a nivel poblacional la actividad registrada en el EPN en ratones en libre movimiento codifica recompensa y lado de giro. Se detectó una contribución mínima de valor (dificultad de los estímulos).

La codificación cinemática en el EPN es contextual

Como segundo objetivo, se buscó evaluar las relaciones que existen entre la actividad de las unidades registradas y las variables cinemáticas. Dado que las dinámicas poblacionales más destacadas describen una relación lineal entre el tiempo/espacio y la actividad de la población (**Figura 11**), también buscamos evaluar variables espacio-temporales. Debido al diseño del paradigma conductual, existen dos épocas distintas de desplazamiento: trayectorias de retorno (a la esquina de espera) y trayectorias de ida (a cualquiera de las esquinas de recompensa). La hipótesis que se busca examinar es que si la codificación presente en este núcleo fuera puramente motora, ésta sería invariante a estos dos contextos.

Las **Figuras 14** muestran tres unidades ejemplo. Para cada unidad se presentan dos gráficos tipo ráster correspondientes a las trayectorias de regreso y de ida, alineados al inicio del movimiento y ordenados según la duración de la trayectoria. Se agrupó y promedió la

actividad en seis bins para visualización, y se presentan las tasas de disparo promedio y la rapidez promedio del desplazamiento del animal. Todas las unidades presentadas tienen correlaciones significativas con al menos tres de las variables presentadas, lo que sugiere que un modelo de regresión múltiple es más adecuado para el análisis.

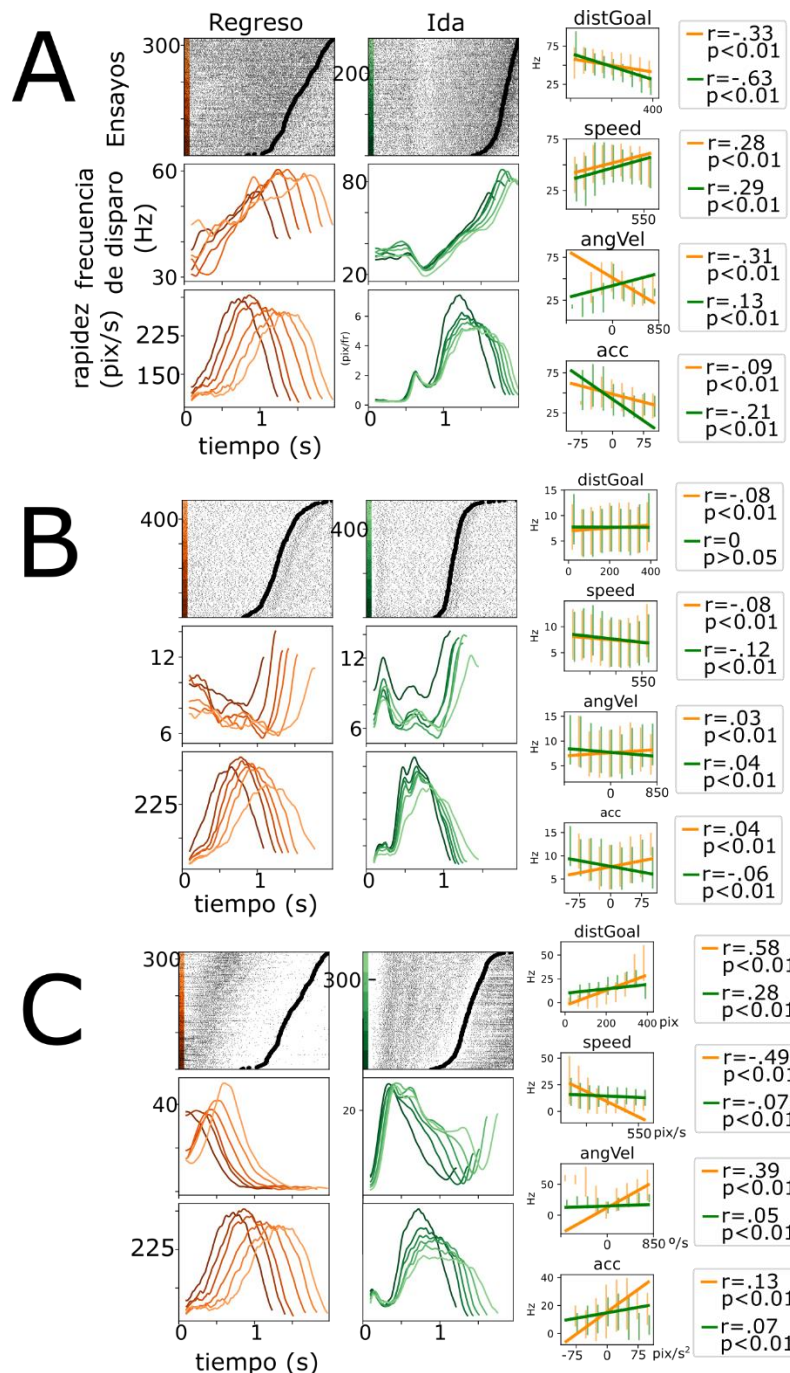


Figura 14. Ejemplos de unidades registradas durante los períodos de ida y regreso.

A-C. Se muestran tres unidades ejemplo. Las gráficas tipo ráster muestran actividad para el Regreso (izquierda) y la Ida (derecha) ordenadas según la duración de la trayectoria (círculo negro). Se agruparon en 6 trazos y se presenta abajo la frecuencia de disparo promedio, así como la rapidez de desplazamiento promedio. Se presentan regresiones simples para algunas variables a la derecha por separado para las trayectorias de Ida (naranja) y Regreso (verde).

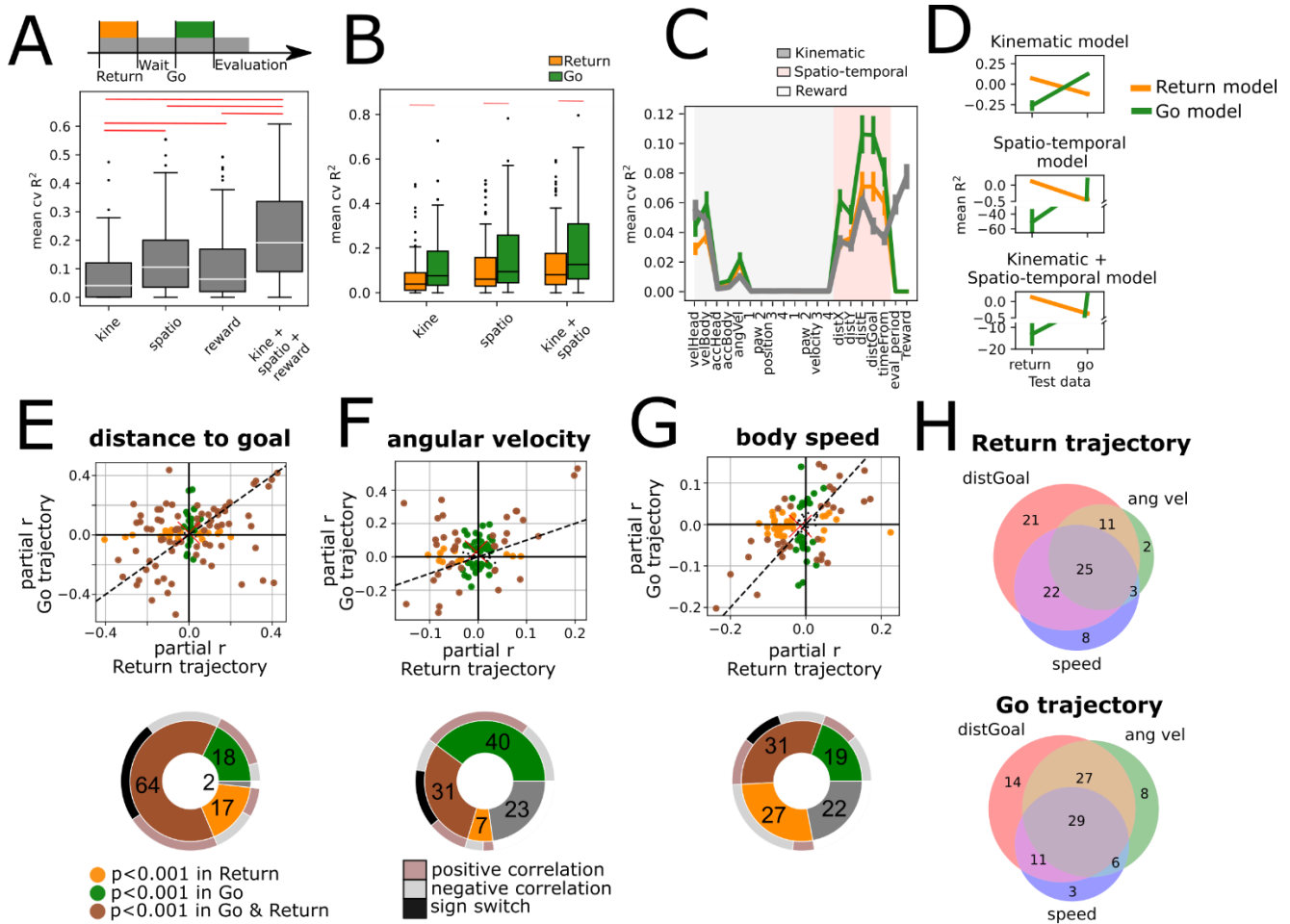


Figura 15. Codificación cinemática y espacio-temporal durante las trayectorias de Ida y Vuelta.

A. R² promedio (ajustada mediante validación cruzada de 10 iteraciones) de modelos de regresión múltiple ajustados en datos del ensayo completo (períodos de regreso, espera, ida y evaluación) para variables segregadas en cinemáticas, espacio-temporales y de recompensa. Además, se ajusta el modelo completo que agrupa todas estas (n=118 unidades). La línea roja representa diferencias estadísticamente significativas (p<0.01, prueba de Wilcoxon).

B. cvR² promedio para modelos de una sola variable. El sombreado corresponde a cinemáticas (gris) y espacio-temporales (rosa). Las variables relacionadas con la recompensa se encuentran sin sombreado. Los modelos se ajustaron con los datos de Regreso (naranja), Ida (verde) y del ensayo completo (gris).

C. Se entrenaron modelos para el Regreso y la Ida por separado, y se probaron usando datos de los dos períodos. Se realizaron modelos individuales para las variables cinemáticas, espacio-temporales y un modelo mixto que incorpora ambas. Note que la varianza explicada por todos los modelos que se probaron con datos no usados durante su entrenamiento son significativamente menores que cuando se usó datos en los que se entrenaron (p<0.01, Wilcoxon)

D. Arriba: Se calculó el coeficiente de correlación parcial para la variable de distancia desde el objetivo usando los residuales de un modelo ajusto con las variables cinemáticas (excluyendo variables espacio-temporales). Esto se hizo por separado para el Regreso (eje x) y la Ida (eje y). La línea punteada corresponde a línea de identidad ($x=y$). Abajo: Gráfico de pastel que resume los datos de arriba. Café: unidades con correlaciones estadísticamente significativas para ambos períodos, Regreso e Ida. Verde: unidades con correlación estadísticamente significativa sólo durante la Ida. Naranja: unidades con correlación estadísticamente significativa sólo durante el Regreso. El pastel externo resume el signo de las correlaciones donde en gris y salmón se muestran las correlaciones negativas y positivas, respectivamente, para el Regreso y la Ida. En negro se muestran las unidades cuya correlación cambió de signo.

E. Arriba: Coeficientes de correlación parcial para la variable de velocidad angular calculado de los residuales de un modelo ajustado con todas las variables cinemáticas y espacio-temporales excepto la velocidad angular, por separado para las trayectorias de Ida y Regreso. Abajo: similar a H.

F. Arriba: Coeficientes de correlación parcial para la variable de velocidad angular calculado de los residuales de un modelo ajustado con todas las variables cinemáticas y espacio-temporales excepto la rapidez de desplazamiento, por separado para las trayectorias de Ida y Regreso. Abajo: similar a H.

G. Diagramas de Venn del porcentaje de unidades totales con un coeficiente de correlación parcial significativo para las variables de distancia al objetivo, velocidad angular y rapidez de desplazamiento para las trayectorias de Regreso e Ida.

Para la construcción de modelos de regresión múltiple se dividieron a las variables en tres tipos: cinemáticas (medidas a partir del cuerpo del animal), espacio-temporales (medidas en relación a la arena) y relacionadas con la recompensa. Debido a la posibilidad de colinealidad entre las variables medidas (**Figura 5B**), se empleó la regresión LASSO que introduce un término de regularización que reduce los coeficientes y penaliza las variables colineales, actuando como una selección de característica (ver Metodología). Para evaluar qué tan bien el modelo explica la actividad neural, se calculó el R^2 a través de validación cruzada (10 iteraciones, denominada cvR^2) para cada unidad, lo que garantiza que la varianza explicada no se deba al azar.

El grupo de variables cinemáticas fue la peor para explicar la varianza de la actividad unitaria, cuando se compara contra las variables espacio-temporales y las relacionadas con la recompensa (**Figura 15A**). Sin embargo, un modelo que incorpora a los tres grupos de variables supera a cualquier categoría específica.

Un objetivo importante de este estudio fue comparar la codificación de las variables cinemáticas y las espacio-temporales entre los dos períodos de movimiento (Ida versus Retorno) puesto que son dos períodos de movimiento similar pero con un objetivo diferente.

Al ajustar los modelos por separado para las trayectorias de Retorno y las de Ida, se encontró que la cvR^2 promedio para los modelos entrenados con los datos de las trayectorias de Ida es mayor que aquellos entrenados con los datos de las trayectorias de Regreso (barras verdes y naranjas en **Figura 15B**), para las variables cinemáticas, espacio-temporales, así como para un modelo mixto ($p < 0.001$, prueba de Wilcoxon). Esto implica que tanto las variables cinemáticas como espacio-temporales están mejor representadas durante las trayectorias que los animales realizaron hacia los puertos de recompensas (trayectorias de Ida). Esto puede deberse en parte a unidades que tienen una respuesta mayor durante la trayectoria de Ida (**Figura 10 E**).

A continuación, se investigó cuáles variables son más relevantes para el ajuste de los modelos. Con este fin, se construyeron modelos de variable única para cada unidad y se calculó el cvR^2 promedio para cada una de las variables medidas (**Figura 15C**). Esto también se hizo por separado para las trayectorias de Ida (verde) y de Regreso (naranja), así como para el modelo mixto (gris). Entre las variables cinemáticas, la mejor variable para explicar la varianza de los datos neurales fue la rapidez del cuerpo, seguida de la rapidez de la cabeza y la velocidad angular.

Se encontró que las relaciones entre la actividad neural y las variables estudiadas no son generalizables entre contextos. El desempeño de los modelos (medido a través de la R^2) se reduce drásticamente al cambiar los datos de prueba a los del otro contexto (**Figura 15D**). Es poco probable que esto se deba a un sobre ajuste sobre los datos entrenados puesto que los modelos se entrenaron a través de validación cruzada. La implicación de este hallazgo es que comprender las relaciones entre las variables cinemáticas y espacio-temporales en un contexto (una trayectoria) no es suficiente para predecir cómo responderá la población en otro contexto.

Para examinar más a fondo por qué estos modelos no eran generalizables entre contextos, se calculó el coeficiente de correlación parcial para ambos contextos para tres de las variables: distancia a la meta, velocidad, y velocidad angular (**Figura 15 E-G**). Se realizó un ajuste del modelo completo exceptuando a la variable en cuestión para los datos de ambas trayectorias por separado, y se usaron los residuales para calcular el coeficiente de correlación con la variable en cuestión (ver Metodología). Se graficó el coeficiente de correlación de la trayectoria de Regreso (eje x) contra aquél de la trayectoria de Ida (eje y). Si se cumpliera la hipótesis de que las unidades del EPN exhiben una codificación puramente motora, todos los puntos de los datos se agruparían alrededor de la línea de identidad (línea discontinua en las **Figuras 15 E-G**). Sin embargo, este análisis revela que algunas unidades muestran una correlación parcial significativa con la variable durante las trayectorias de Regreso (puntos naranjas) o las trayectorias de Ida (puntos verdes). Aunque

hay unidades que muestran una correlación significativa en ambas trayectorias (puntos marrones), éstas no se encuentran únicamente dentro de los cuadrantes I y III del gráfico cartesiano, lo que significa que algunas unidades tienen correlaciones estadísticamente significativas con signos opuestos durante las dos trayectorias (**Figura 15**, gráficas de pastel). De hecho, para la velocidad angular y la rapidez de desplazamiento del cuerpo sólo alrededor de un tercio (31%) tiene correlaciones parciales significativas en ambas trayectorias, pero sólo alrededor de una quinta parte de las unidades tiene correlaciones significativas con signos congruentes (**Figuras 15 E-G**, gráficos de pastel). En general, estos análisis pintan un panorama complejo, donde el subconjunto de unidades que codifican cada una de las variables estudiadas en un contexto no es el mismo que las que codifican la misma variable en otro contexto. Además, la diferente magnitud de correlación explica por qué los modelos entrenados en una trayectoria no son generalizables a la otra. Algunos casos extremos de esta inestabilidad en la codificación son aquellas unidades que tienen un cambio de signo entre un contexto y otro (pastel exterior negro en **Figuras 15 E-G**).

Puesto que se encontró que una unidad podía codificar significativamente múltiples variables, se planteó mostrar cómo las correlaciones parciales significativas para estas tres variables se encontraban distribuidas entre las unidades registradas. En la (**Figura 15 H**) se trazaron diagramas de Venn del porcentaje de unidades que codifican significativamente cada una de estas tres variables durante las trayectorias de Retorno (arriba) de Ida (abajo). Se encontró que existe un panorama similar en ambos períodos de movimiento en el que la mayoría de las unidades tienen correlaciones significativas con más de una variable. Sin embargo, como se examinó antes, el subconjunto de unidades en cada una de las categorías no es el mismo de un contexto a otro.

No existe una segregación entre la codificación cinemática y espacio temporal con la de recompensa

Una pregunta interesante que resolver es si las unidades registradas pueden agruparse en función de las variables que codifican. Es decir, se buscó comprender si existían grupos de unidades que codificaran algunas variables con más fuerza que otras. Para este objetivo, se realizó una reducción de dimensionalidad de los coeficientes del modelo que mejor explicaba ambos contextos (modelo cinemático + espacio-temporal sobre los datos agrupados de Regreso e Ida) utilizando UMAP ((McInnes et al., 2018)). En la reducción de dimensiones de los coeficientes se observa un continuo en lugar de grupos discretos (**Figura 16A**), lo que sugiere que no existen grupos discretos de codificación.

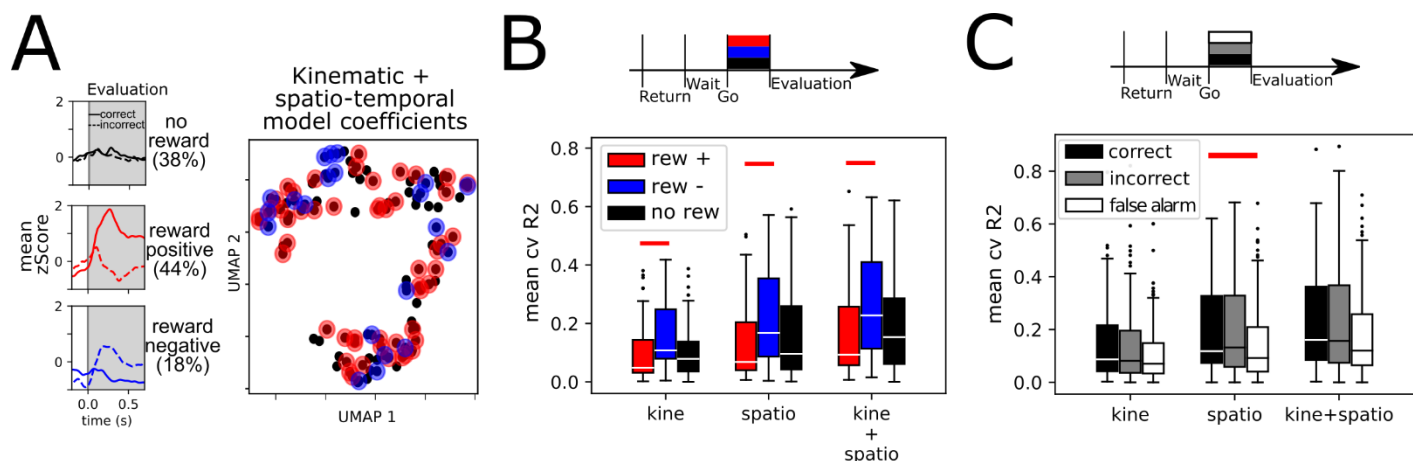


Figura 16. Las neuronas que codifican recompensa también pueden representar parámetros del movimiento.

A. Izquierda: Promedio (en z-Score) de actividad para las unidades segregadas según su respuesta a la recompensa. El panel superior muestra el promedio de unidades sin respuesta a la recompensa. El panel medio e inferior muestran el promedio de actividad de las unidades con una diferencia estadísticamente significativa entre ensayos recompensados y no recompensados en una ventana de 250ms después de que introdujeron la cabeza al puerto de recompensa. El panel medio corresponde a unidades de recompensa positiva en la que los ensayos recompensados mostraron un incremento en la actividad con respecto a los no recompensados. El panel inferior muestra a las unidades de recompensa negativa, cuya actividad es menor durante los ensayos recompensados comparado con los no recompensados.

Derecha: se muestra una reducción de dimensiones de los coeficientes de un modelo ajustado a los datos del ensayo completo usando variables cinemáticas y espacio-temporales. Los puntos rojos representan a las unidades de recompensa positiva y los azules a las unidades de recompensa negativa.

B. cvR2 promedio de modelos ajustados en variables cinemáticas, espacio-temporales y ambas, segregadas según su codificación de recompensa. Las líneas rojas indican diferencias estadísticamente significativas (U de Mann-Whitney, $p < 0.01$).

C. cvR2 promedio de modelos ajustados en variables cinemáticas, espacio-temporales y ambas. Los datos se segregaron según el tipo de ensayo: correcto, incorrecto y falsa alarma.

¿Las unidades que son sensibles a la recompensa también codifican información motora? Esta pregunta se abordó separando a las unidades que codificaban significativamente la recompensa (auROC de los ensayos recompensados vs los no recompensados 250ms tras llegar a puerto, $p < 0.001$, prueba de permutación). Se separaron a las unidades que aumentan su frecuencia durante los ensayos recompensados (recompensa positiva, un ejemplo de esto en **Figura 14 L**), y a las que disminuyen su tasa de disparo en los ensayos recompensados (recompensa negativa, un ejemplo de esto en **Figura 12 H**). Esto implica que la codificación para las variables cinemáticas y espacio-temporales está distribuida

uniformemente y que la codificación de estas variables no segrega la codificación de recompensa (**Figura 14 M**, cajas rojas y azules versus negras). Las unidades de recompensa positiva codifican mejor estas variables que las unidades de recompensa negativa (**Figura 14 N**, cuadros rojos versus azules). Sin embargo, ningún tipo de unidades sensibles a la recompensa tuvo un cvR2 significativamente diferente al de las unidades insensibles a la recompensa.

Para preguntar el si el valor de la acción podría estar influyendo en la forma en que las unidades codifican las variables, separamos los ensayos según su resultado en correctos e incorrectos. Además, incluimos los ensayos falsa alarma que los animales realizaron en ausencia de cualquier estímulo auditivo. Se ajustaron los modelos de manera independiente para cada subconjunto de datos. Se encontró que los ensayos falsa alarma tienen un cvR2 estadísticamente significativo más bajo sólo para el modelo espacio-temporal, no así para el cinemático (**Figura 14 L**). Por lo tanto, las señales que varían en el tiempo/espacio se atenúan durante los ensayos falsa alarma (un ejemplo de este fenómeno es visible para la unidad en **Figura 10 E**).

¿Qué hace que las trayectorias de Retorno e Ida sean diferentes a nivel poblacional?

Para abordar esta pregunta, se buscó entender qué dinámicas a nivel poblacional están compartidas entre los dos tipos de trayectorias, y qué dinámicas subyacen a las diferencias contextuales. Con este fin, se aislaron trayectorias de Retorno y de Ida que fueran muy similares desde un punto de vista motor (ver Metodología) basado en la rapidez de desplazamiento y la velocidad angular (**Figura 17 A**). Curiosamente, al proyectar la actividad poblacional (n=118 unidades) en los primeros tres componentes principales, las trayectorias de Regreso e Ida ocupan diferentes subespacios en este gráfico (**Figuras 17 B, 18 A y B**). De hecho, si bien la similitud cinemática es alta entre las trayectorias de Regreso y de Ida (**Figura 17 C arriba**), la similitud poblacional muestra dos grupos según el contexto (**Figura 17 C abajo**).

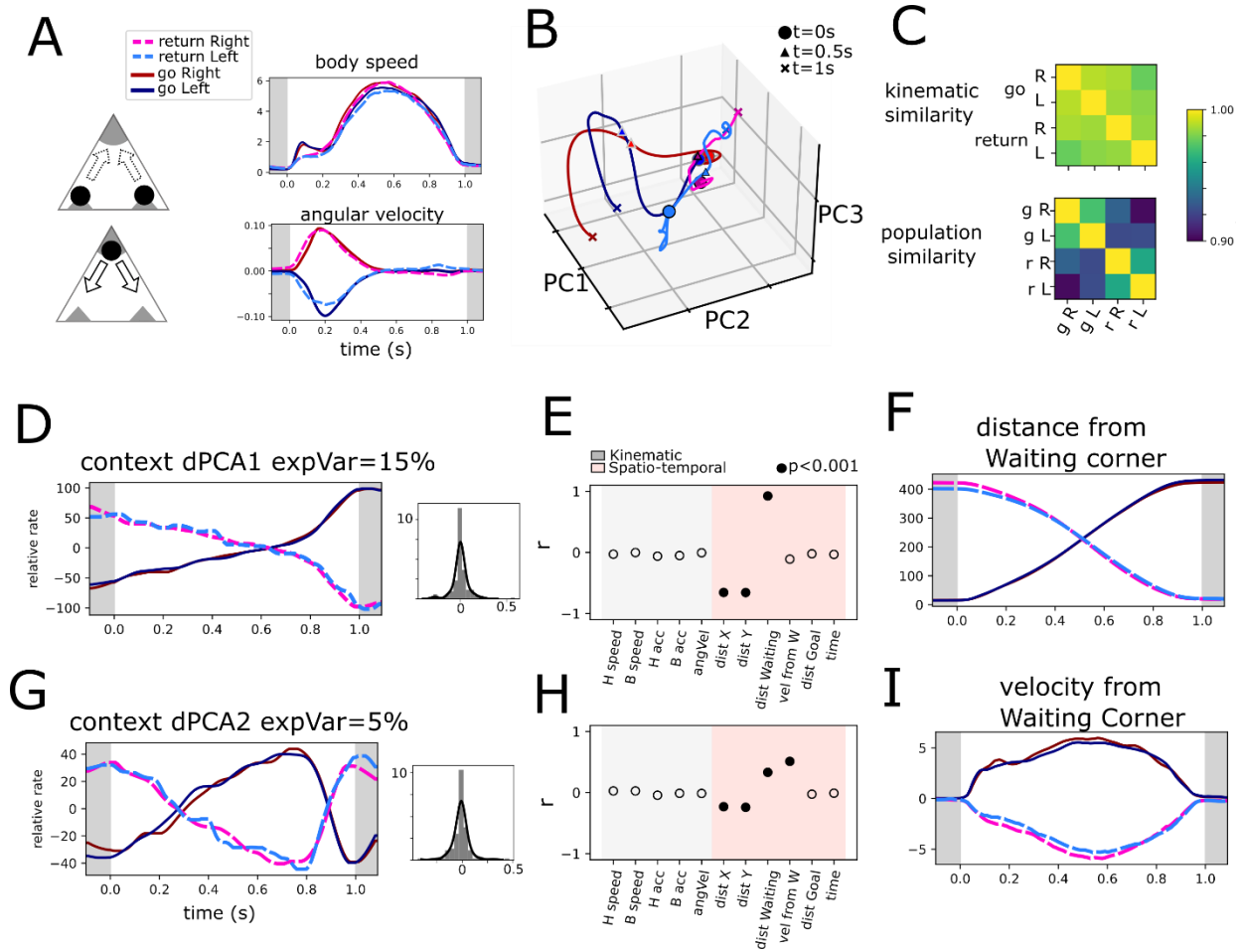


Figura 17. Dinámicas poblacionales de las trayectorias de Regreso e Ida.

A. Se encontraron trayectorias con alta similitud (ver Metodología) basados en la rapidez de desplazamiento y la velocidad angular para los períodos de Regreso e Ida. Se grafica el promedio de la rapidez de desplazamiento y velocidad angular para las cuatro condiciones.

B. Se grafica una proyección de las trayectorias de actividad neural poblacional en los primeros tres componentes principales (PCA).

C. Similitud de coseno para las cuatro condiciones basadas en parámetros cinemáticos y actividad poblacional.

D. Componente principal demixado (dPCA) de Contexto que explica la mayor varianza. Se presenta el histograma de pesos.

E. Coeficiente de correlación entre la dinámica poblacional en D y diferentes variables calculadas en los mismos períodos.

F. Distancia desde la Esquina de Espera para las cuatro condiciones.

G. Componente principal demixado (dPCA) de Contexto que explica la segunda mayor varianza. Se presenta el histograma de pesos.

H. Coeficiente de correlación entre las dinámicas poblacionales extraída en G y diferentes variables calculadas en los mismos períodos.

I. Velocidad desde la Esquina de Espera para las cuatro condiciones.

Para encontrar una dinámica más interpretable que pueda explicar las diferencias entre los dos contextos, se empleó dPCA, marginalizando por contexto, izquierda-derecha, y componentes temporales. La hipótesis es que los componentes temporales compartidos por ambos contextos podrían exhibir variables cinemáticas y que la marginalización izquierda-derecha estaría reflejando la velocidad angular. Después de realizar el procedimiento dPCA (ver Metodología), se ordenaron los componentes extraídos según su varianza explicada (**Figura 18 C**). Es importante tener en cuenta que después de la marginalización de las variables ya descritas, la extracción de las dinámicas poblacionales no es supervisada. Es decir, las dinámicas extraídas no tendrían por qué producir necesariamente trazos relacionados con parámetros cinemáticos particulares, y es poco probable que suceda debido a la alta multiplexación ya descrita (**Figura 14,15,16**). Sin embargo, se buscó interpretar los trazos resultantes en función de las variables medidas. Por lo tanto, se compararon los trazos resultantes con las variables medidas en los mismos períodos temporales calculando el coeficiente de correlación y probando su significancia a través de permutación ($p < 0.001$).

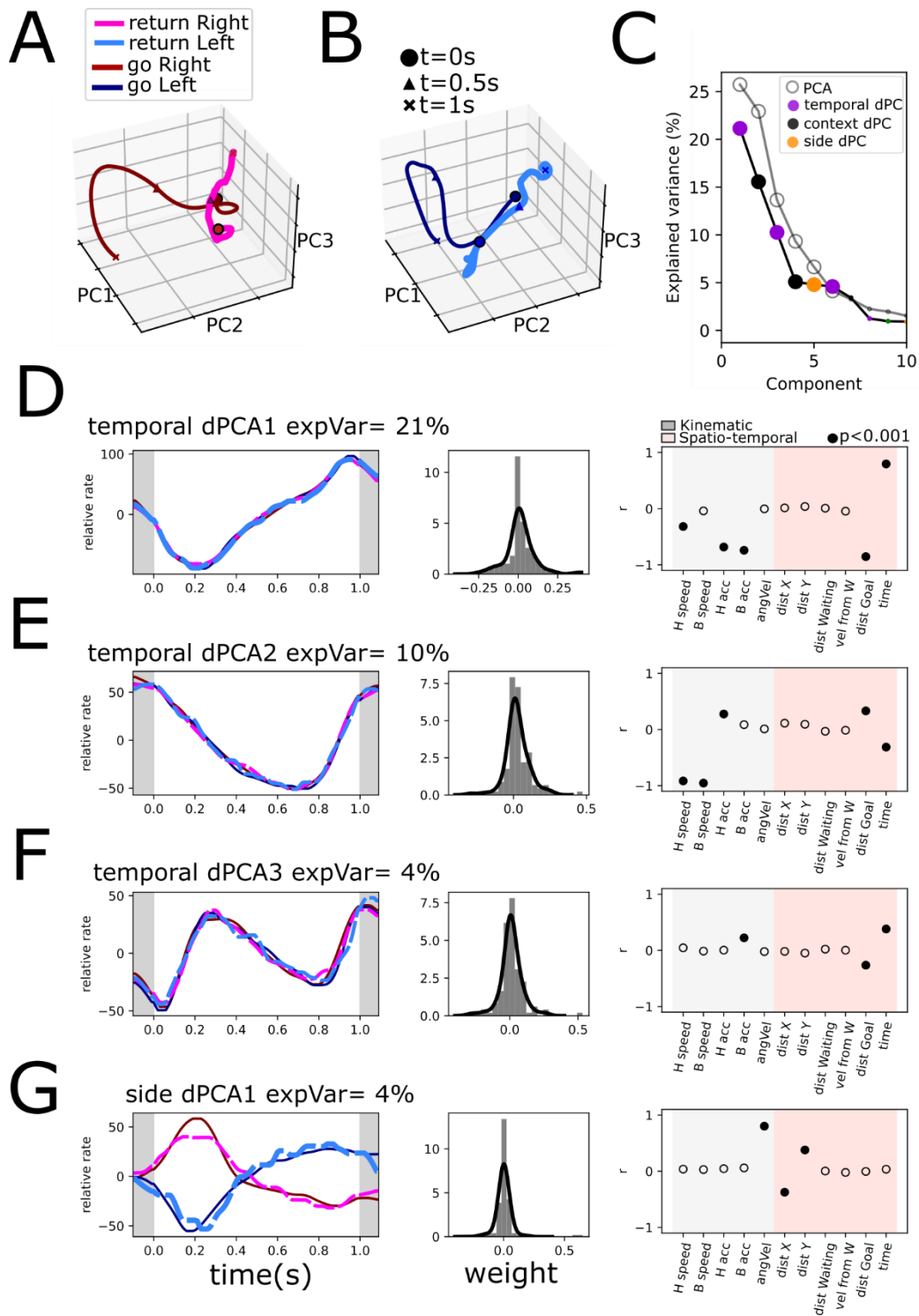


Figura 18. Componentes principales demixados (dPCA) para las trayectorias de Regreso y de Ida, continuado

A. y B. Proyecciones de la actividad poblacional en las cuatro condiciones ya presentadas anteriormente pero ahora separadas por contexto.

C. Varianza explicada por los componentes principales (PCA) y los componentes principales demixados (dPCA).

D. – G. componentes principales demixados temporales (condición independiente) con sus histogramas de pesos. A la derecha se muestra la correlación que estos componentes tuvieron con algunas variables cinemáticas.

La marginalización contextual produce dos dPCs significativos que explican las trayectorias entre las trayectorias de Regreso y de Ida. De hecho, el dPC1 contextual explica el 15% de la varianza total (**Figura 17 D**), y se observan trazos que exhiben una dinámica temporal opuesta entre el Retorno y la Ida. Curiosamente, el dPC2 contextual (**Figura 17 G**) muestra una gran similitud con del dPC2 temporal que a su vez se puede correlacionar bien con la velocidad (**Figura 18 E**). Sin embargo, el dPC2 contextual muestra una dinámica que evoluciona de manera opuesta entre ambos contextos y simétrica en el tiempo. Esto sugiere una representación de la rapidez del animal coexiste con una representación de velocidad espacialmente referenciada.

Los dPCs independientes de condición (temporales) resumen la dinámica poblacional compartida por los contextos de Regreso y de Ida (**Figura 18 D-F**). El dPC1 temporal (**Figura 18 D**) tiene una alta correlación con la distancia a la meta (**Figura 18 D**, panel derecho) mientras que el dPC2 temporal (**Figura 18 E**) está bien correlacionado con la rapidez de desplazamiento (**Figura 18 E**, panel derecho). Es importante notar que es esperable que estos trazos no correlacionen únicamente con una de las variables medidas puesto que existe un alto nivel de multiplexación que se estableció previamente (**Figuras 14,15**). La marginalización de lateralidad (dPC1 de lateralidad, **Figura 18 G**) produce trazos que tienen una correlación significativa con la velocidad angular (**Figura 18 G**, panel derecho) tanto para las trayectorias de retorno como de ida. Note que las trayectorias de ida ocurrieron bajo la presencia de un estímulo auditivo, y no así las trayectorias de Regreso; sin embargo, los trazos correspondientes a los giros a la izquierda y derecha (independiente de objetivo) muestran una buena superposición. Por lo tanto, esto confirma aún más que las diferencias asociadas entre giro izquierdo y derecho se explican bien por la velocidad angular. En conjunto, los datos presentados en las **Figuras 17 y 18** sugieren que las dinámicas dependientes del contexto explican variables cuya medición depende de lugares específicos de la arena. Así, las variables con dependientes del espacio tienen una representación importante por parte de la actividad poblacional del EPN.

Las unidades del núcleo entopeduncular se modulan por la marcha y la conducta de lengüeteo

Los hallazgos presentados hasta ahora apoyan una representación importante de la rapidez del desplazamiento del ratón (**Figuras 14,15,16**), así como variables espaciales (**Figura 17**).

Sin embargo, estudios previos en varias especies (humanos, primates no humanos, gatos) han sugerido que existe una representación somatotópica en el GPi de diversas especies [humanos, primates no humanos, gatos (Baker et al., 2010; Larsen & McBride, 1979; Nambu, 2011)]. Por esto, un objetivo del estudio fue examinar la modulación del EPN por movimientos individuales de la pata y la lengua, utilizando la naturaleza cíclica de la marcha y la conducta de lamido para examinar la potencial presencia de actividad a nivel muscular, puesto que exhiben una coordinación entre flexores y extensores.

Dado que los animales fueron registrados desde una vista inferior, es posible realizar el seguimiento de las patas individuales del animal (**Figura 19 A**). Se encontraron trayectorias tanto de ida como de regreso con al menos cuatro zancadas individuales (**Figura 19 A**, triángulos) y se usaron para alinear la actividad unitaria. La **Figura 19 B** muestra dos unidades ejemplo que fueron registradas simultáneamente desde diferentes electrodos. Observe cómo la Unidad 1 tiene una actividad organizada en fase con la zancada, mientras que la Unidad 2 muestra una modulación más sutil por el ciclo de la caminata que se monta sobre una dinámica temporal que difiere para la Ida y el Regreso. La posición promedio de las extremidades durante la sesión (**Figura 19 B, abajo**) se encuentra bien conservada y existe un alto nivel de correlación y anti correlación, lo que justifica usar solo una extremidad para el estudio formal de la actividad neural. Este procedimiento de alineamiento se realizó para todas las unidades estudiadas y se presenta en la **Figura 19 C**, ordenados por la actividad máxima durante el paso 4 en las trayectorias de Regreso. Este ordenamiento se conserva sólo sutilmente para el resto de los pasos, destacando la naturaleza dinámica de esta modulación con la marcha.

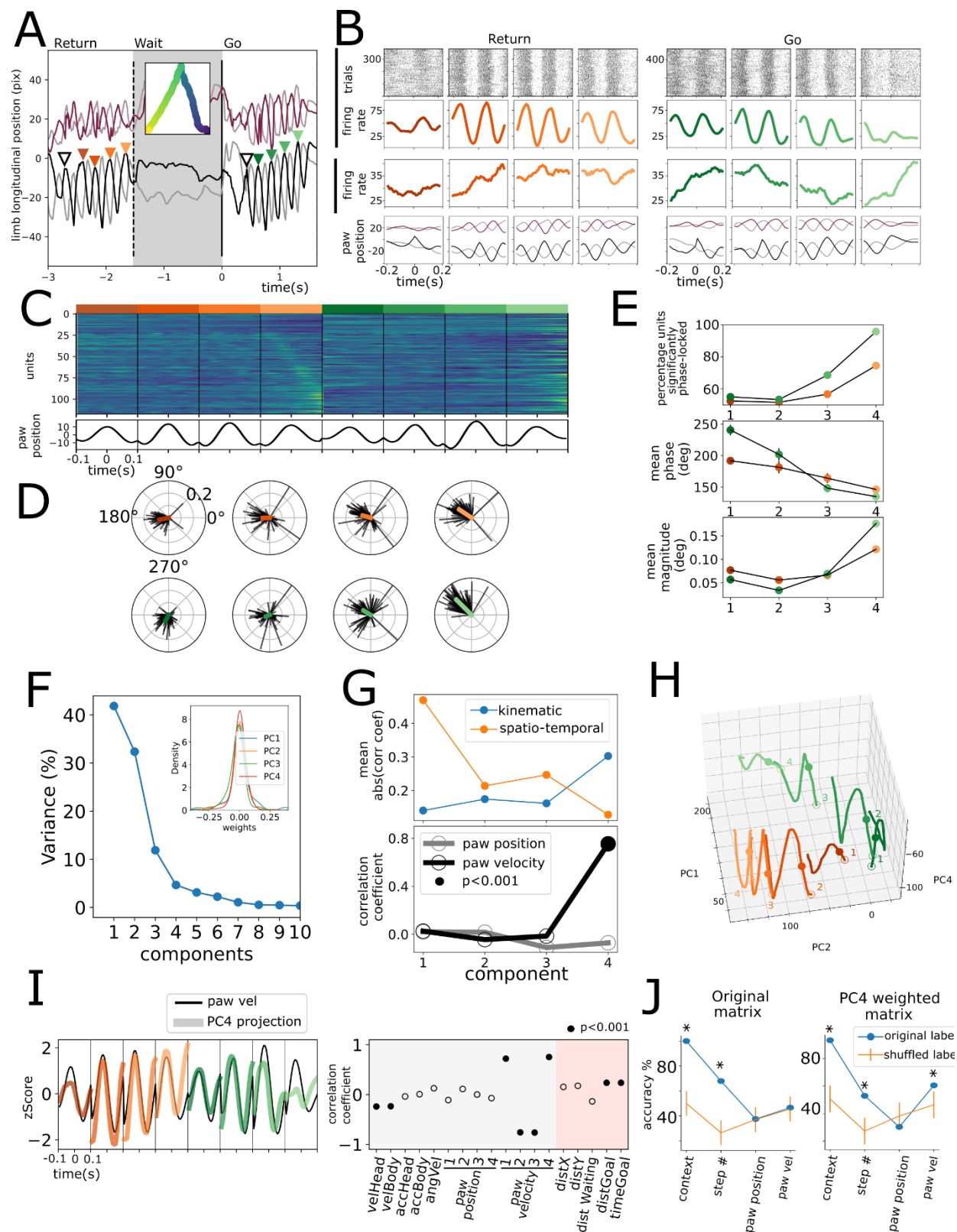


Figura 19. Modulación de las unidades del EPN en la marcha.

- A.** Posición longitudinal de las patas de un ratón durante los períodos de Regreso, Espera y la Ida. El recuadro muestra la trayectoria del animal en la arena. Los triángulos coloreados muestran eventos identificados para el alineamiento de la actividad unitaria.
- B.** Actividad de dos unidades registradas simultáneamente en las 8 zancadas que se estudian. La hilera inferior muestra la posición promedio de las patas que corresponde a los ensayos que se usan para activar la actividad unitaria.
- C.** Actividad poblacional durante las 8 zancadas estudiadas.
- D.** Vector promedio de el acoplamiento entre la actividad unitaria y el ciclo de la caminata para las unidades moduladas.
- E.** Arriba: Fracción de unidades moduladas significativamente por el ciclo de la caminata (prueba Rayleigh de direccionalidad, $p < 0.001$). Medio: Fase promedio del vector poblacional. Abajo: Magnitud promedio del vector poblacional.
- F.** Varianza explicada por la descomposición en componentes principales (PCA) de los datos mostrados en C. Recuadro muestra la distribución de pesos de los primeros cuatro componentes principales.
- G.** Arriba: promedio del valor absoluto del coeficiente de correlación para las variables cinemáticas y espacio-temporales de las proyecciones de los primeros 4 componentes principales.
Abajo: Coeficiente de correlación parcial entre variables asociadas a la extremidad y las proyecciones de los componentes principales.
- H.** Proyección de la población en los componentes PC1, PC2 y PC4 para las zancadas estudiadas, en tonos naranjas para el Regreso y en tonos verdes para la Ida.
- I.** Izquierda: Proyección del PC4 para las 4 zancada estudiadas graficado sobre la velocidad de la pata posterior contralateral, mostrando un buen sobrelape. Derecha: coeficiente de correlación entre las variables cinemáticas y espacio-temporales. Los círculos rellenos representan correlaciones estadísticamente significativas (prueba de permutación).
- J.** Clasificador basado en Máquinas de vectores de soporte entrenados para diferentes variables (eje x). La precisión del clasificador se evaluó entrenando a un clasificador con los datos originales y otros ($n=1000$) con las etiquetas aleatorizadas (prueba de permutación). Note que la velocidad de la pata no se pudo decodificar de la matriz original y sí a partir de la matriz pesada con el PC4.

Puesto que la locomoción requiere una contracción coordinada de flexores y extensores durante cada zancada, se planteó la hipótesis de que si la actividad unitaria estuviera representando la contracción muscular, se encontrarían unidades sincronizadas a la fase de la caminata pero en fases opuestas y simétricas (flexores versus extensores). Se calculó la fase del ciclo de la caminata en la que las unidades generaban mayor cantidad de disparos para cada unidad. En la **Figura 19 D** se muestran los vectores promedio de las unidades individuales con una sincronización significativa con la fase de la marca ($p < 0.001$, prueba de direccionalidad de Rayleigh) para cada uno de los ocho pasos estudiados.

Observe cómo para cada paso las unidades muestran vectores que se agrupan sobre una fase de la caminata, sin un balance en la antifase. Por otro lado, la fase promedio de la población cambia a lo largo de los pasos (**Figura 19 E superior**). La magnitud del vector promedio aumenta con el número de pasos (**Figura 19 E medio**), lo que sugiere un aumento en la sincronización conforme los pasos incrementan. Estos resultados no respaldan que la actividad esté relacionada con la contracción muscular, porque la mayoría de las unidades moduladas están sesgadas hacia una sola fase de la marcha, sin representación en la fase opuesta (**Figura 19 D**). Además, la sincronización de las unidades con la marcha aumenta a medida que los pasos se acercan a la meta, y la precesión de fase que se observa no se produciría si las unidades estuvieran estrictamente relacionadas con la actividad muscular.

Debido a la existencia generalizada de esta actividad sincronizada con la fase, se planteó la hipótesis de que existiría un plano de covarianza que la abarcaría. Por lo tanto, al realizar PCA en la actividad de la población (**Figura 19 F**) se podría comprender qué variable estaría representada a nivel poblacional. Se encontró que la proyección de la actividad población sobre los primeros 3 componentes principales correlacionaba mejor con las variables espacio-temporales (**Figura 19 G**, panel superior), mientras que el PC4 tenía una buena correlación con la velocidad de la pata (**Figura 19 G**, panel inferior). De hecho, existe una clara sobreposición de la proyección del PC4 con la velocidad de la pata (**Figura 19 I**, paneles izquierdo y derecho). Finalmente, se buscó comparar la robustez de la representación de las diferentes variables en la actividad poblacional. Con este fin, se entrenaron clasificadores de vectores de soporte lineal para discernir entre trayectorias de Regreso y de Ida (contexto), número de paso y posición y velocidad de la pata (**Figura 19 J**). La velocidad de la extremidad sólo se pudo decodificar por encima del azar en la matriz ponderada por el PC4 (**Figura 19 J**, panel derecho), no así en los datos originales (**Figura 19 J**, panel izquierdo). Estos resultados apoyan la existencia de una representación relativamente débil de la velocidad de la pata a nivel poblacional. El PC4 relacionado con las patas explica sólo el 5% de la varianza (**Figura 19 F**) de esta matriz, que incluye menos tiempo en comparación con otros análisis poblacionales (**Figuras 10**), no segrega por dirección de giro y no incluye el período de recompensa.

Por último, se realizó una prueba adicional para entender la representación cinemática del EPN analizando cómo la actividad de este núcleo se correlacionaba con la conducta de lamido. Los lengüetazos individuales se pudieron registrar mediante un sensor fabricado a la medida (**Figura 20 A**, ver Metodología). Se encontró una correlación entre la actividad del EPN y la conducta de lamido a dos escalas temporales diferentes: como episodio de lengüeteos completo (para el consumo de la recompensa) y en el comportamiento de

lengüeteo individual. Las **Figura 20 B y C** son gráficos tipo ráster de lengüetazos y actividad unitaria registrados simultáneamente, para los puertos izquierdo y derecho. Debido a la aparente similitud entre los trazos de tasa de lengüeteos y la tasa de disparo, se intentó evaluar si las unidades podrían estar codificando la tasa de lengüeteo durante el episodio de esta conducta. Con este fin se calculó la actividad reescalada a la duración promedio de los episodios de lengüeteos. La **Figura 20 D** muestra la actividad reescalada de tres unidades registradas simultáneamente y la tasa de lengüeteo correspondiente. A pesar de que las tres unidades exhiben dinámicas diferentes, las tres tienen una correlación significativa con la tasa de lengüeteos. De hecho, la mayoría de las unidades (91%) exhiben una correlación significativa, ya sea positiva o negativa, con la tasa de lengüeteos ($p < 0.001$, prueba de permutación).

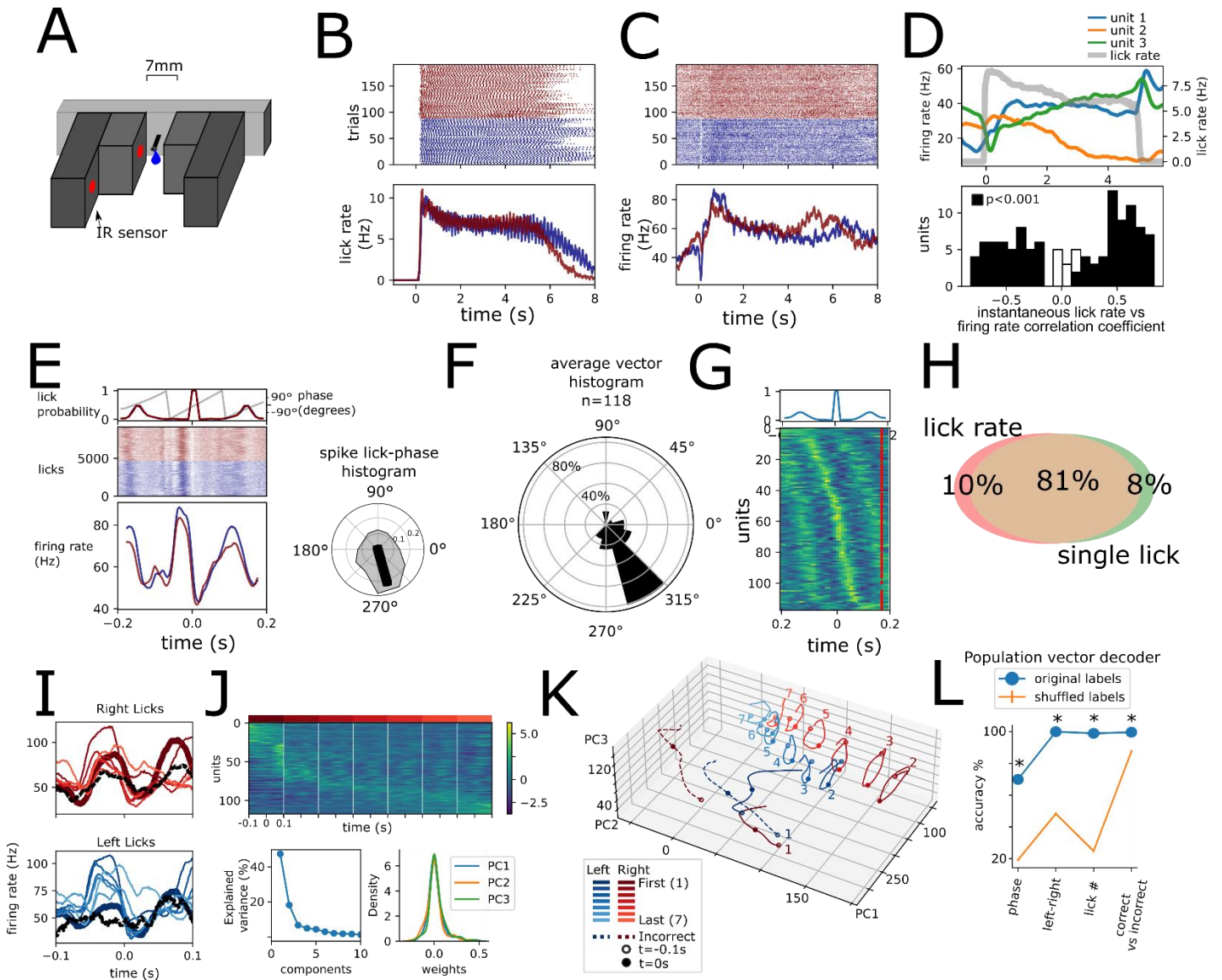


Figura 20. Modulación de las unidades del EPN por la conducta de lengüeteo.

- A.** Esquema del aparato construido para la detección de lengüeteos individuales, basado en sensores infrarrojos.
- B.** Lengüeteos alineados para el puerto izquierdo y el puerto derecho.
- C.** Ejemplo de una unidad registrada durante la misma conducta mostrada en B.
- D.** Arriba: Actividad de tres unidades simultáneamente registradas reescaladas a la duración promedio del consumo de una recompensa de agua. Además, se muestra en gris la frecuencia instantánea de lengüeteo. Abajo: histograma de coeficiente de correlación entre la frecuencia de disparo y la frecuencia de lengüeteo para todas las unidades. Las barras negras representan unidades significativamente moduladas ($p < 0.001$, prueba de permutación).
- E.** Misma unidad ejemplo mostrada en C alineada a lengüeteos individuales izquierdos (rojo) y derechos (azul). El recuadro superior muestra la probabilidad de lengüeteo a través del tiempo y la fase de lengüeteo derivada de esta señal. La gráfica polar a la derecha muestra un histograma de espigas y fase de ciclo, así como el vector resultante.
- F.** Histograma polar (bin=30°) de la dirección de los vectores promedio para todas las unidades. El eje polar tiene unidades de porcentaje de unidades.
- G.** Actividad promedio ante un solo lengüeteo para todas las unidades registradas, ordenadas por el pico de actividad. Recuadro superior: promedio de probabilidad de lengüeteo.
- H.** Diagrama de Venn que muestra el porcentaje de la población total ($n=118$) de unidades con correlación estadísticamente significativa a la tasa de lengüeteo y/o con los lengüeteos individuales.
- I.** Promedio de actividad de un lengüeteo individual segregado por el primer y último lengüeteo, y 5 adicionales distribuidos entre estos dos, además de para lengüeteos incorrectos, separados en aquellos realizados en el puerto izquierdo y derecho.
- J.** Actividad poblacional para $n=118$ unidades para los 7 lengüeteos derechos alineados según el lengüeteo con mayor actividad. Abajo: fracción de varianza explicada por la descomposición en PCA y distribución de los pesos para los primeros tres componentes.
- L.** Decodificadores de vectores poblacionales para diferentes variables con etiquetas originales (en azul) comparados con decodificadores entrenados con etiqueta aleatorizadas ($n=1000$, $p < 0.001$, prueba de permutación).

Posteriormente se obtuvieron PETH de la actividad durante lengüeteos individuales en los puertos izquierdo y derecho (rojo y azul, respectivamente), como se muestra en la **Figura 20 E** para la misma unidad en la **Figura 20 C**. Se extrajo la fase de lengüeteo a partir de la probabilidad de lengüetazos (cruces de sensores por la lengua del animal, **Figura 20 E**), y se pudo generar un histograma de actividad

Al realizar este procedimiento para todas las unidades, se encontró que éstas disparan preferentemente en una fase específica de esta conducta cíclica. Esto también se muestra en el mapa de calor en donde se muestra la actividad alineada a lengüeteos individuales de todas las unidades registradas.

Así, se muestra que prácticamente todas las unidades (99%) exhiben una correlación con la tasa de lengüeteos, lengüeteos únicos o ambos (**Figura 20 H**).

¿Cuál es el significado de una representación tan robusta de la conducta de lengüeteo en casi todas las unidades registradas?

La hipótesis que se planteó como respuesta a esta pregunta es que diversos aspectos contextuales. Para investigar esta hipótesis, se obtuvieron histogramas perievento de 16 lengüeteos individuales por unidad: el primer y último de cada episodio de lengüeteo, así como 5 lengüeteos distribuidos dentro del episodio para el puerto derecho y el izquierdo. Además, los animales ocasionalmente realizaban un lengüeteo cuando realizaban ensayos incorrectos, al que denominamos lengüeteo incorrecto (derecho e izquierdo). Esto permitió analizar una salida motora similar (un solo lengüeteo) realizado en diferentes situaciones contextuales. Una unidad ejemplo (**Figura 20 I**) muestra que a pesar de que existen similitudes en todas estas condiciones, los trazos exhiben diferencias claras. La **Figura 20 J** muestra un mapa de calor para 7 lengüeteos a la derecha, ordenados por el lengüeteo con mayor actividad. Esto resalta que si bien hay una modulación en la escala temporal de los lengüeteos individuales, también está presente una modulación del episodio completo. Después de la reducción de dimensionalidad a través de PCA (**Figura 20 J, abajo**), se proyectaron las respuestas poblacionales en los tres primeros componentes (**Figura 20 K**). La respuestas poblacionales para las 16 condiciones presentan una respuesta circular (cíclica). Sin embargo, ocupan espacios distintos en este diagrama de estado, lo que sugiere que la población del EPN puede distinguir entre estas condiciones. Para evaluar esto, se entrenaron clasificadores de vectores para las variables: puerto izquierdo vs derecho, número de lengüeteo, y correcto vs incorrecto. Todas estas variables pudieron decodificarse a partir de los vectores poblacionales con una precisión por arriba del azar (**Figura 20 L**). Este conjunto de resultados muestran que la mayoría de las unidades el EPN están moduladas por el comportamiento de lengüeteo en diferentes escalas temporales. Además, la información sobre la cinemática del lengüeteo se representa simultáneamente con otras variables contextuales.

DISCUSIÓN

En este estudio se destacó la naturaleza dinámica en la que el GPI/EPN representa la cinemática del movimiento. Un aspecto que destaca es que se observaron dinámicas espacio-temporales muy prominentes que son más importantes para explicar la actividad del núcleo que las propias cinemáticas. También resalta que las relaciones que se encuentran entre las diferentes variables probadas y la actividad del núcleo fluctúan mucho entre dos períodos de movimiento que son bastante parecidos (Regreso vs Ida). Las

unidades del núcleo parecen multiplexar funciones diversas como la recompensa, movimientos de cuerpo completo y movimientos de partes individuales del cuerpo (como las patas y la lengua) con variables contextuales. Por otro lado, fue sorprendente no encontrar un correlato de la dificultad de los estímulos.

El objetivo principal del estudio era investigar cómo la actividad del núcleo entopeduncular está relacionada con variables cinemáticas, recompensa y valor, durante la locomoción. Estudios previos destacaron que este núcleo participa en la codificación de recompensa con un sesgo espacial. Además, existía evidencia de que la codificación cinemática no es estable entre estados cognitivos. Con esto en mente, se diseñó una tarea conductual que involucrara confianza, recompensa y dos períodos de movimiento.

Representación del período de evaluación y la recompensa, pero no de la dificultad

En este estudio se pudo evidenciar que la actividad del EPN puede representar el período de evaluación y la recompensa de manera robusta. Al analizar el período de ida de la tarea, se encontró una dinámica poblacional que separa al período de evaluación del resto de la tarea y es la dinámica que captura la mayor varianza (**Figura 11C**). Además, la codificación de la recompensa está representada en este núcleo por neuronas que la codifican de manera positiva y negativa, lo que va de acorde con estudios previos (Hong & Hikosaka, 2008; Stephenson-Jones et al., 2016).

Stephenson-Jones et al. encontraron que una subpoblación del EPN que proyecta a la habénula puede codificar el valor de la recompensa esperada in una tarea de condicionamiento clásico. Nosotros hipotetizamos que al variar la dificultad del estímulo (y así incrementar la incertidumbre de las decisiones más difíciles) podríamos modular el valor percibido por el sujeto de la acción elegida. Sin embargo la varianza poblacional que esta hipótesis explica es muy baja (**Figura 10**). La graduación en la dificultad de los estímulos sí logró influenciar la velocidad angular con la que los sujetos giraban (**Figura 8**) lo que sugiere cierto nivel de metacognición sobre la incertidumbre de su decisión. Sin embargo, la velocidad con la que los sujetos se desplazaban no se correlacionaba bien con la dificultad (**Figura 9**), lo que podría sugerir que esta metacognición se diluyó a través del tiempo. Por otro lado, la codificación de valor antes descrita se realizó en neuronas registradas en una tarea de condicionamiento clásico en ratones en situación de cabeza fija donde la contingencia de estímulo condiciona a estímulo incondicionado pudo ser más explícita. También, la inmovilidad forzada podría generar respuestas cognitivas menos mezcladas con parámetros cinemáticos. Sigue siendo posible que manipulando otras variables como el tamaño de la recompensa líquida se hubiera podido generar respuestas más graduadas según la variable de valor.

En este estudio se encontró que los desenlaces recompensantes se representaron por unidades del EPN mediante un incremento o un decremento en la actividad (**Figura 10 G, derecha**). Mientras que Stephenson-Jones et al en 2016 encontraron que las neuronas GPi-LHb codificaban eventos recompensantes como un decremento en la actividad, Hong y Hikosaka en 2008 encontraron que ésta población podía codificar la recompensa tanto con un incremento en la actividad como con un decremento en la misma. Así, nuestros datos en este trabajo tienen más parecido con este último estudio.

El EPN puede representar la cinemática del movimiento

En este estudio se encontró que las trayectorias de Ida presentaron una representación más robusta de las variables cinemáticas y espacio-temporales cuando se comparó con las trayectorias de regreso (**Figura 15B**). Como se exploró en la introducción, esta representación inconsistente del movimiento en la actividad del GPi es un tema constante a lo largo de un número grande de estudios. Algunas hipótesis que se han propuesto es que el tipo de movimiento determina el nivel de representación (pasivo vs activo, en rampa o autoiniciado vs en pasos, (DeLong, 1971; Georgopoulos et al., 1983; Mink & Thach, 1991c)). Otros estudios sugieren que el estado cognitivo y la dependencia en la memoria modulan esta representación (Turner & Anderson, 2005). Algo interesante que se encontró en este estudio es que mientras que la mayoría de los estudios previos se han enfocado en el movimiento exclusivo de las extremidades, en este estudio se encontró que las variables del cuerpo completo durante el desplazamiento (como velocidad, aceleración, entre otras) son mejores para explicar la varianza de la actividad del EPN que el movimiento de las patas individuales. En este estudio los dos períodos de movimiento analizados, la Ida y el Regreso, son autoiniciados y difieren más que nada en relación a la recompensa.

La representación del movimiento en el EPN parece ser muy dependiente en el objetivo del mismo. Las variables cinemáticas y espacio-temporales no están representadas de manera estable en movimientos muy similares que se ejecutan con diferentes objetivos (**Figuras 14,15,17,18**). Debido a la naturaleza secuencial de la tarea, ambas trayectorias, de Ida y de Regreso, son requeridas para conseguir una recompensa. Ambas trayectorias se ejecutan por un objetivo: la de Regreso se ejecuta para recibir el estímulo sensorial mientras que la de Ida se ejecuta para recibir una recompensa. Sin embargo, es sólo la trayectoria de Ida que se ejecuta por algo explícitamente recompensante (agua). Por esto, hipotetizamos que los movimientos que se realizan para recibir recompensa están mejor representadas en el EPN. Una conclusión similar se encontró en primates que realizaban movimientos de muñeca para recibir recompensas: los movimientos que se hacían para recibir recompensas modulaban a una mayor cantidad de neuronas que los que no tenían este objetivo explícito (**Figura 3b**) (Gdowski et al., 2001). Quizás si estudios previos en los que se

ha hallado una inconsistencia en la representación del movimiento dependiendo del tipo fueran reanalizados en el contexto de su relación con la recompensa se podría unificar esta conclusión.

Por otro lado, un hallazgo crucial de este estudio fue que las variables espacio-temporales tienen más relevancia para explicar la actividad de este núcleo que las variables cinemáticas (**Figura 14**). Además, estas variables espacio-temporales son sensibles al valor de una acción (**Figura 16C**, los ensayos de Falsa Alarma tienen un R^2 menor en el modelo espacio-temporal). Importantemente, la representación de variables cinemáticas no se ve afectada por el cambio del valor de la acción. Es posible que el valor influya las dinámicas espacio temporales (similar al error en la predicción de recompensa (Dayan & Balleine, 2002)). Un hallazgo previo que también destacó la presencia de componentes temporales fue un estudio en primates en donde se enfocaron en analizar las dinámicas del GPi durante una decisión (Thura & Cisek, 2017). Destacaron la presencia de una dinámica temporal a la que llamaron urgencia, y la ausencia de información acerca de la decisión en comparación con otras regiones cerebrales. Esto sugiere que más que movimiento, el EPN puede estar computando las relaciones contextuales presentes en la tarea.

Por muchos años se ha creído que las funciones relacionadas a la recompensa están separadas de las motoras en el EPN (**Figura 2b**), hecho que se ha reforzado cuando se estableció que existen dos proyecciones independientes hacia la habénula y hacia el tálamo motor (Hong & Hikosaka, 2008; Stephenson-Jones et al., 2016; Wallace et al., 2017). Mientras que en este estudio no identificamos a las neuronas por su sitio de proyección, sí se pudo evaluar su sensibilidad tanto a la recompensa como al movimiento. Sorprendentemente, se encontró que unidades sensibles a la recompensa podían codificar parámetros cinemáticos tan bien como las unidades que no codificaban recompensa (**Figura 14 B**).

Se encontró que las dinámicas poblacionales latentes que mejor explican las diferencias entre la Ida y el Regreso pueden a su vez explicarse por variables referenciadas espacialmente (como la distancia y la velocidad desde un lugar específico, **Figura 17**). Las dinámicas similares entre contextos pero con signos opuesto probablemente corresponden a las unidades que cambiaron de signo entre contextos (**Figura 15E-G**, pastel externo, en negro). Interesantemente en un estudio previo en primates realizando movimientos sacádicos (**Figura 4**, (Hong & Hikosaka, 2008)) se encontró que la dirección de un objetivo modulaba en gran medida a las unidades del GPi. Además, las unidades cambiaban el signo de su modulación cuando la localización espacial del objetivo recompensado se alternaba. Estos autores atribuyeron la actividad al inicio del estímulo y no la estudiaron en relación con el movimiento; pero si se analiza con detenimiento la modulación que estos autores

reportaron ocurre en el momento de la realización del movimiento sacádico. Así, es posible que una función importante de la actividad EPN sea calcular las relaciones cinemáticas y espaciotemporales entre el sujeto y la ubicación de la recompensa.

En este estudio la dinámica de giro es prácticamente ortogonal a la dinámica de recompensa (**Figura 11 H**). Sin embargo, ambos giros realizados en el período de Ida tienen un valor similar. Por otro lado, las dinámicas contextuales que explican las diferencias entre Ida y Regreso sí presentaron un cambio de signo (**Figura 17**). Por lo tanto, el valor de la acción (moverse hacia o desde la ubicación recompensada) podría explicar estas dinámicas opuestas. De hecho, los modelos que calculan el error en la predicción de recompensa incorporan variables espacio-temporales (Dayan & Balleine, 2002; H. R. Kim et al., 2020).

Existen varios estudios en especies variadas que sugieren una organización somatotópica del GPi (Baker et al., 2010; Larsen & McBride, 1979; Nambu, 2011). Por esto, se buscó poner a prueba esta hipótesis de que esta organización somatotópica podría estar representando información de la contracción muscular. Para ello, se analizaron dos movimientos cíclicos, la marcha y el lengüeteo, que requieren una contracción coordinada entre flexores y extensores. Si bien las unidades se modularon ante fases específicas de estas dos conductas cíclicas, no hubo un equilibrio en la antifase que pudiera estar representando tanto a flexores como extensores. Esto puede significar que sólo se encuentran representados los músculos flexores, o la alternativa más plausible, que la actividad no esté relacionada con la contracción muscular. Otro aspecto que sugiere que no es una relación con la contracción muscular es que ambas representaciones, la de la marcha y la del lengüeteo, se encuentran superpuestas: las mismas unidades que se modulan ante las patas también se modulan con la lengua. Por lo mismo, se puede concluir que en los datos de ratón registrados en este estudio no existe una representación somatotópica, lo que concuerda con algunos estudios previos en primates (DeLong, 1971; Mitchell et al., 1987).

Por último, fue sorprendente encontrar una representación tan robusta de la conducta de lengüeteo. Prácticamente todas las unidades tenían relación con la frecuencia de lengüeteo o con lengüeteos individuales. Esto significa que las mismas unidades que tuvieron relación con el movimiento durante períodos de desplazamiento también representaban de manera robusta el lengüeteo. Asimismo, la población del EPN podía representar parámetros contextuales de esta conducta (**Figura 17**).

¿Cuál podría ser el propósito de tener una representación de muchos tipos de movimiento y variables en una misma población de neuronas? Los hallazgos en este estudio sugieren que el valor de la acción puede ser crucial para responder esta pregunta. Los movimientos señalizados (Ida, ensayos correctos) tienen una mejor representación que movimientos no señalizados (Falsas Alarmas), que a su vez tienen una mejor representación que aquellas

trayectorias que no se ejecutan por recompensa (trayectorias de Regreso). Asimismo, el lengüeteo, la acción de consumir una recompensa, modula de manera muy robusta a este núcleo (**Figura 11 C y F**). Por tanto, es posible que el EPN sirva como una retroalimentación en tiempo real de las propiedades de recompensa que tiene una acción.

Contextualizando a este estudio dentro de las teorías de funcionamiento de los ganglios basales.

Modelos como el de la ‘frecuencia de disparo’ (Albin et al., 1989) y el ‘modelo de la actividad dinámica’ (Nambu et al., 2023) se basan fundamentalmente en que la salida de los ganglios basales (GPi y SNpr) deben inhibirse para facilitar al movimiento. Los datos de este estudio no concuerdan con esta hipótesis. Cuando se considera solamente actividad promedio en los dos períodos de movimiento no muestran diferencia estadística con el período de Espera en donde le animal se encuentra en inmovilidad (**Figura 10**). Además, se corrobora que existen relaciones complejas y no estables entre los dos periodos de movimiento (**Figuras 14,15,17,18**) que podrían ser afectadas por actividad oscilatoria aberrante que se ha descrito en algunas enfermedades (como en modelos de la Enfermedad de Parkinson (Guillery et al., 1997)). Por último, no se encontró una segregación entre las funciones de recompensa y aquellas más asociadas al movimiento (**Figura 16**).

En este estudio hubo un enfoque en describir en detalle la representación de diversas variables en la actividad del EPN. Sin embargo, la interpretación de cómo esta representación tan compleja influye sobre los sitios de proyección de este núcleo se complica aún más cuando se toma en cuenta que algunas neuronas de este núcleo forman sinapsis con neurotransmisores tanto excitatorios como inhibitorios (Wallace et al., 2017). De hecho, cuando se han realizado registros simultáneos del GPi y el tálamo anterior (sitio de proyección) se encuentra correlaciones relativamente débiles (Schwab et al., 2020).

Una debilidad del estudio es que no se realizó una caracterización de los subtipos neurales del núcleo. Una futura área de oportunidad sería realizar fotoindentificación de las unidades basados en sitios de proyección o de marcadores neurales. Por otro lado, la clasificación de una unidad como parte del EPN se basó en histología, que inherentemente tiene cierta deficiencia. Así, técnicas de fotoindentificación podrían aportar una mayor especificidad a los registros.

CONCLUSIONES

La actividad del núcleo entopeduncular puede multiplexar variables diversas entre las que están recompensa, cinemáticas, espacio-temporales, movimientos de extremidades, entre

otras. La actividad del EPN refleja tanto movimientos de extremidades individuales así como movimientos de cuerpo completo. Se encontró que las correlaciones con estas variables no son estables analizando movimientos muy similares en contextos diferentes. Finalmente, la localización espacial de la recompensa puede ejercer influencia en las dinámicas poblacionales de este núcleo.

REFERENCIAS

- Alatriste-León, H., Verma-Rodríguez, A. K., Ramírez-Jarquín, J. O., & Tecuapetla, F. (2020). Perturbations in the Activity of Cholinergic Interneurons in the Dorsomedial Striatum Impairs the Update of Actions to an Instrumental Contingency Change. *Neuroscience*, 439, 287–300. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.11.023>
- Albin, R. L., Young, A. B., & Penney, J. B. (1989). *The functional anatomy of basal ganglia disorders*.
- Alexander, G. E., Crutcher, M. D., & Alexander, arrett E. (1990). *Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing*.
- Anderson, M. E., & Horak, F. B. (1985). Influence of the Globus Pallidus on Arm Movements in Monkeys. III. Timing of Movement-Related Information. In *JOURNAL OF NEUROPHYSIOLOGY* (Vol. 54, Issue 2).
- Anderson, M. E., & Turner, R. S. (1991). Activity of neurons in cerebellar-receiving and pallidal-receiving areas of the thalamus of the behaving monkey. *Journal of Neurophysiology*, 66(3), 879–893. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.66.3.879>
- Baker, K. B., Lee, J. Y. K., Mavinkurve, G., Russo, G. S., Walter, B., DeLong, M. R., Bakay, R. A. E., & Vitek, J. L. (2010). Somatotopic organization in the internal segment of the globus pallidus in Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, 222(2), 219–225. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.12.030>
- Blomstedt, P., & Hariz, M. I. (2010). Deep brain stimulation for movement disorders before DBS for movement disorders. *Parkinsonism and Related Disorders*, 16(7), 429–433. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2010.04.005>
- Brotchie, P., Iansek, R., & Horne, M. K. (1991). Motor function of the monkey globus pallidus: 2. COGNITIVE aspects OF movement AND phasic NEURONAL activity. *Brain*, 114(4), 1685–1702. <https://doi.org/10.1093/brain/114.4.1685>

- Cox, J., & Witten, I. B. (2019). Striatal circuits for reward learning and decision-making. *Nature Reviews Neuroscience*, 20(8), 482–494. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0189-2>
- David Ferrier. (1886). *The functions of the brain* (2nd ed.). Smith, Elder.
- Dayan, P., & Balleine, B. W. (2002). Reward, Motivation, and Reinforcement Learning. *Neuron*, 36(2), 285–298. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00963-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00963-7)
- DeLong, M. R. (1971). Activity of pallidal neurons during movement. *Journal of Neurophysiology*, 34(3), 414–427. <https://doi.org/10.1152/jn.1971.34.3.414>
- DeLong, M. R. (1973). Putamen: Activity of Single Units during Slow and Rapid Arm Movements. In *New Series* (Vol. 179, Issue 4079).
- DeLong, M. R. (1990). Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends in Neurosciences*, 13(7), 281–285. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90110-V](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90110-V)
- Gdowski, M. J., Miller, L. E., Parrish, T., Nenonen, E. K., & Houk, J. C. (2001). Context Dependency in the Globus Pallidus Internal Segment During Targeted Arm Movements. *Journal of Neurophysiology*, 85(2), 998–1004. <https://doi.org/10.1152/jn.2001.85.2.998>
- Georgopoulos, A., DeLong, M. R., & Crutcher, M. D. (1983). Relations between parameters of step-tracking movements and single cell discharge in the globus pallidus and subthalamic nucleus of the behaving monkey. In *The Journal of Neuroscience* (Vol. 3, Issue 8). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.03-08-01586.1983>
- Grillner, S., & Robertson, B. (2016). The Basal Ganglia Over 500 Million Years. *Current Biology*, 26(20), R1088–R1100. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.06.041>
- Guillery, R. W., Bergman, H., Feingold, A., Nini, A., Raz, A., Slovin, H., & Abeles, M. (1997). *Physiological aspects of information processing in the basal ganglia of normal and parkinsonian primates*. 2236(97), 1–7. [papers2://publication/uuid/1FDA7C9D-DC4C-47A4-9FE5-0972EC09DC4B](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11523/JNEUROSCI.03-08-01586.1983/)
- Hikosaka, O., Takikawa, Y., & Kawagoe, R. (2000). Role of the basal ganglia in the control of purposive saccadic eye movements. *Physiological Reviews*, 80(3), 953–978. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.3.953>
- Hintiryan, H., Foster, N. N., Bowman, I., Bay, M., Song, M. Y., Gou, L., Yamashita, S., Bienkowski, M. S., Zingg, B., Zhu, M., Yang, X. W., Shih, J. C., Toga, A. W., & Dong, H. W.

- (2016). The mouse cortico-striatal projectome. *Nature Neuroscience*, 19(8), 1100–1114. <https://doi.org/10.1038/nn.4332>
- Hong, S., & Hikosaka, O. (2008). The Globus Pallidus Sends Reward-Related Signals to the Lateral Habenula. *Neuron*, 60(4), 720–729. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.09.035>
- Hong, S., Jhou, T. C., Smith, M., Saleem, K. S., & Hikosaka, O. (2011). Negative reward signals from the lateral habenula to dopamine neurons are mediated by rostromedial tegmental nucleus in primates. *Journal of Neuroscience*, 31(32), 11457–11471. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1384-11.2011>
- Hunnicutt, B. J., Jongbloets, B. C., Birdsong, W. T., Gertz, K. J., Zhong, H., & Mao, T. (2016). A comprehensive excitatory input map of the striatum reveals novel functional organization. *ELife*. <https://doi.org/10.7554/eLife.19103.001>
- Kim, H. F., Ghazizadeh, A., & Hikosaka, O. (2015). Dopamine Neurons Encoding Long-Term Memory of Object Value for Habitual Behavior. *Cell*, 163(5), 1165–1175. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.063>
- Kim, H. R., Malik, A. N., Mikhael, J. G., Bech, P., Tsutsui-Kimura, I., Sun, F., Zhang, Y., Li, Y., Watabe-Uchida, M., Gershman, S. J., & Uchida, N. (2020). A Unified Framework for Dopamine Signals across Timescales. *Cell*, 183(6), 1600-1616.e25. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.11.013>
- Kimura, M., Rajkowski, J., & Evarts, E. (1984). *Tonically discharging putamen neurons exhibit set-dependent responses (striatum/globus pallidus/basal ganglia/conditioned stimulus/cholinergic neurons)* (Vol. 81). <https://www.pnas.org>
- Klaus, A., Martins, G. J., Paixao, V. B., Zhou, P., Paninski, L., & Costa, R. M. (2017). The Spatiotemporal Organization of the Striatum Encodes Action Space. *Neuron*, 95(5), 1171-1180.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.08.015>
- Kobak, D., Brendel, W., Constantinidis, C., Feierstein, C. E., Kepecs, A., Mainen, Z. F., Qi, X. L., Romo, R., Uchida, N., & Machens, C. K. (2016). Demixed principal component analysis of neural population data. *ELife*, 5(APRIL2016), 1–36. <https://doi.org/10.7554/eLife.10989>
- Kornhuber, H. H. (1971). Motor functions of cerebellum and basal ganglia: the cerebellocortical saccadic (ballistic) clock, the cerebellonuclear hold regulator, and the basal ganglia ramp (voluntary speed smooth movement) generator. *Kybernetik*, 8(4), 157–162. <https://doi.org/10.1007/BF00290561>

- Kravitz, A. V., Freeze, B. S., Parker, P. R. L., Kay, K., Thwin, M. T., Deisseroth, K., & Kreitzer, A. C. (2010). Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. *Nature*, 466(7306), 622–626. <https://doi.org/10.1038/nature09159>
- Larsen, K. D., & McBride, R. L. (1979). The organization of feline entopeduncular nucleus projections: Anatomical studies. *Journal of Comparative Neurology*, 184(2), 293–308. <https://doi.org/10.1002/cne.901840206>
- Lazaridis, I., Tzortzi, O., Weglage, M., Martin, A., Xuan, Y., Parent, M., Johansson, Y., Fuzik, J., Fürth, D., Fenno, L. E., Ramakrishnan, C., Silberberg, G., Deisseroth, K., Carlén, M., & Meletis, K. (2019). A hypothalamus-habenula circuit controls aversion. *Molecular Psychiatry*, 24(9), 1351–1368. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0369-5>
- Lopes, G., Bonacchi, N., Frazão, J., Neto, J. P., Atallah, B. V., Soares, S., Moreira, L., Matias, S., Itskov, P. M., Correia, P. A., Medina, R. E., Calcaterra, L., Dreosti, E., Paton, J. J., & Kampff, A. R. (2015). Bonsai: An event-based framework for processing and controlling data streams. *Frontiers in Neuroinformatics*, 9(APR), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fninf.2015.00007>
- Markowitz, J. E., Gillis, W. F., Beron, C. C., Neufeld, S. Q., Robertson, K., Bhagat, N. D., Peterson, R. E., Peterson, E., Hyun, M., Linderman, S. W., Sabatini, B. L., & Datta, S. R. (2018). The Striatum Organizes 3D Behavior via Moment-to-Moment Action Selection. *Cell*, 174(1), 44–58.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.04.019>
- Mathis, A., Mamidanna, P., Cury, K. M., Abe, T., Murthy, V. N., Mathis, M. W., & Bethge, M. (2018). DeepLabCut: markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning. *Nature Neuroscience*, 21(9), 1281–1289. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0209-y>
- McInnes, L., Healy, J., Saul, N., & Großberger, L. (2018). UMAP: Uniform Manifold Approximation and Projection. *Journal of Open Source Software*, 3(29), 861. <https://doi.org/10.21105/joss.00861>
- Mink, J. W. (2003). The Basal Ganglia and Involuntary Movements. *Archives of Neurology*, 60(10), 1365. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.10.1365>
- Mink, J. W., & Thach, W. T. (1991a). Basal ganglia motor control. I. Nonexclusive relation of pallidal discharge to five movement modes. *Journal of Neurophysiology*, 65(2), 273–300. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.65.2.273>

- Mink, J. W., & Thach, W. T. (1991b). Basal ganglia motor control. II. Late pallidal timing relative to movement onset and inconsistent pallidal coding of movement parameters. *Journal of Neurophysiology*, 65(2), 301–329. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.65.2.301>
- Mitchell, S. J., Richardson, R. T., Baker, F. H., & DeLong, M. R. (1987). The primate globus pallidus: neuronal activity related to direction of movement. *Experimental Brain Research*, 68(3), 491–505. <https://doi.org/10.1007/BF00249793>
- Mullie, Y., Arto, I., Yahiaoui, N., & Drew, T. (2020). Contribution of the entopeduncular nucleus and the globus pallidus to the control of locomotion and visually guided gait modifications in the cat. *Cerebral Cortex*, 30(9), 5121–5146. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhaa106>
- Musall, S., Kaufman, M. T., Juavinett, A. L., Gluf, S., & Churchland, A. K. (2019). Single-trial neural dynamics are dominated by richly varied movements. *Nature Neuroscience*, 22(10), 1677–1686. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0502-4>
- Nambu, A. (2011). Somatotopic organization of the primate basal ganglia. *Frontiers in Neuroanatomy*, APRIL. <https://doi.org/10.3389/fnana.2011.00026>
- Nambu, A., Chiken, S., Sano, H., Hatanaka, N., & Obeso, J. A. (2023). Dynamic Activity Model of Movement Disorders: The Fundamental Role of the Hyperdirect Pathway. *Movement Disorders*, 38(12), 2145–2150. <https://doi.org/10.1002/mds.29646>
- Obeso, J. A., Stamelou, M., Goetz, C. G., Poewe, W., Lang, A. E., Weintraub, D., Burn, D., Halliday, G. M., Bezard, E., Przedborski, S., Lehericy, S., Brooks, D. J., Rothwell, J. C., Hallett, M., DeLong, M. R., Marras, C., Tanner, C. M., Ross, G. W., Langston, J. W., ... Stoessl, A. J. (2017). Past, present, and future of Parkinson's disease: A special essay on the 200th Anniversary of the Shaking Palsy. *Movement Disorders*, 32(9), 1264–1310. <https://doi.org/10.1002/mds.27115>
- Oorschot, D. E. (1998). Total number of neurons in the neostriatal, pallidal, subthalamic and substantia nigral nuclei of the rat basal ganglia: A stereological study using the Cavalieri and optical disector methods. *Journal of Comparative Neurology*, 396(4), 556. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19980713\)396:4<556::AID-CNE11>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19980713)396:4<556::AID-CNE11>3.0.CO;2-E)
- Ouagazzal, A. M., Reiss, D., & Romand, R. (2006). Effects of age-related hearing loss on startle reflex and prepulse inhibition in mice on pure and mixed C57BL and 129 genetic background. *Behavioural Brain Research*, 172(2), 307–315. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.05.018>

- Parker, J. G., Marshall, J. D., Ahanonu, B., Wu, Y. W., Kim, T. H., Grewe, B. F., Zhang, Y., Li, J. Z., Ding, J. B., Ehlers, M. D., & Schnitzer, M. J. (2018). Diametric neural ensemble dynamics in parkinsonian and dyskinetic states. In *Nature* (Vol. 557, Issue 7704). <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0090-6>
- Pedregosa, F., Varoquaux, G., Gramfort, A., Michel, V., Thirion, B., Grisel, O., Blondel, M., Prettenhofer, P., Weiss, R., Dubourg, V., Vanderplas, J., Passos, A., Cournapeau, D., Brucher, M., Perrot, M., & Duchesnay, É. (2011). Scikit-learn: Machine Learning in Python. *Journal of Machine Learning Research*, 12(85), 2825–2830. <http://jmlr.org/papers/v12/pedregosa11a.html>
- Penney, J. B., & Young, A. B. (1983). Speculations on the Functional Anatomy of Basal Ganglia Disorders. *Annual Review of Neuroscience*, 6(1), 73–94. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.06.030183.000445>
- Redgrave, P., Rodriguez, M., Smith, Y., Rodriguez-Oroz, M. C., Lehericy, S., Bergman, H., Agid, Y., DeLong, M. R., & Obeso, J. A. (2010). Goal-directed and habitual control in the basal ganglia: Implications for Parkinson’s disease. In *Nature Reviews Neuroscience* (Vol. 11, Issue 11, pp. 760–772). <https://doi.org/10.1038/nrn2915>
- Schwab, B. C., Kase, D., Zimnik, A., Rosenbaum, R., Codianni, M. G., Rubin, J. E., & Turner, R. S. (2020). Neural activity during a simple reaching task in macaques is counter to gating and rebound in basal ganglia–thalamic communication. *PLoS Biology*, 18(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000829>
- Stephenson-Jones, M., Yu, K., Ahrens, S., Tucciarone, J. M., Van Huijstee, A. N., Mejia, L. A., Penzo, M. A., Tai, L. H., Wilbrecht, L., & Li, B. (2016). A basal ganglia circuit for evaluating action outcomes. *Nature*, 539(7628), 289–293. <https://doi.org/10.1038/nature19845>
- Thura, D., & Cisek, P. (2017). The Basal Ganglia Do Not Select Reach Targets but Control the Urgency of Commitment. *Neuron*, 95(5), 1160–1170.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.07.039>
- Turner, R. S., & Anderson, M. E. (1997). *Pallidal Discharge Related to the Kinematics of Reaching Movements in Two Dimensions*.
- Turner, R. S., & Anderson, M. E. (2005). Context-dependent modulation of movement-related discharge in the primate globus pallidus. *Journal of Neuroscience*, 25(11), 2965–2976. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4036-04.2005>

- Verma-Rodríguez, A. K., Ramírez-Jarquín, J. O., Rossi-Pool, R., & Tecuapetla, F. (2024). Basal ganglia output-entopeduncular nucleus-coding of contextual kinematics and reward in the freely moving mouse. *ELife*. <https://doi.org/10.7554/eLife.98159.1>
- Wallace, M. L., Saunders, A., Huang, K. W., Philson, A. C., Goldman, M., Macosko, E. Z., McCarroll, S. A., & Sabatini, B. L. (2017). Genetically Distinct Parallel Pathways in the Entopeduncular Nucleus for Limbic and Sensorimotor Output of the Basal Ganglia. *Neuron*, 94(1), 138-152.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.03.017>
- Wickens, J. (1997). Network: Computation in Neural Systems Basal ganglia: structure and computations Basal ganglia: structure and computations. *Network: Comput. Neural Syst*, 8(97), 77–109. <https://doi.org/10.1088/0954-898X>