



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

CORRELATOS NEURONALES DE LA PERCEPCIÓN  
DEL TIEMPO EN HIPOCAMPO DE MONOS RHESUS  
(*MACACA MULATTA*)

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:  
ANA MARÍA MALAGÓN LEAL

TUTOR PRINCIPAL:  
**VICTOR HUGO DE LAFUENTE FLORES**  
INSTITUTO DE NEUROBIOLGÍA

COMITÉ TUTOR:  
**DR. PAVEL ERNESTO RUEDA OROZCO**  
INSTITUTO DE NEUROBIOLGÍA

**DR. RANIER GUTIÉRREZ MENDOZA**  
CINVESTAV

QUERÉTARO, JUNIO 2021



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.

---

## Resumen

El cerebro tiene la capacidad de percibir estímulos en escalas temporales tan cortas como los microsegundos en donde podemos encontrar mecanismos como la audición binaural o ecolocalización, o tan largas como los días, codificados en el núcleo supraquiasmático a través de los ciclos circadianos. También se encuentra la escala de los milisegundos, tiempo en el que realizamos una gran cantidad de actividades rutinarias como el habla, la apreciación y ejecución musical, manejar un automóvil. Sin embargo, ¿de qué manera los organismos se anticipan a estímulos ambientales para generar conductas adaptativas? Es sabido que en regiones corticales como corteza medial pre-motora, corteza suplementaria, corteza pre-suplementaria, corteza frontal dorsomedial, y subcorticales como núcleo caudado, estriado y cerebelo se codifica la información temporal embebida en estímulos auditivos, visuales y táctiles que se presentan de manera rítmica. Además, en los últimos años, el grupo de Howard Eichenbaum reportó que en murinos entrenados en tareas de memoria episódica, las neuronas del hipocampo miden el transcurso del tiempo entre ensayos, es decir, codifican el transcurso del tiempo; a estas neuronas se les nombró "time cells". No obstante, ¿será posible encontrar actividad neuronal que codifique el transcurso del tiempo en hipocampo para una tarea de percepción del ritmo? Para responder a ello, se entrenó a dos monos rhesus (*Macaca mulatta*) en una tarea de percepción del ritmo, en donde se debe mantener un ritmo que se presenta con un estímulo visual que cambia de izquierda a derecha en una pantalla mientras se registraron potenciales de acción extracelulares de neuronas únicas en el hipocampo.

---

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría (CVU: 1003288).

Al Instituto de Neurobiología de la UNAM, por la oportunidad de adentrarme al mundo de la ciencia.

A mi tutor Dr. Victor de Lafuente, porque me brindó la oportunidad adentrarme al mundo de la electrofisiología.

A la Dra. Nuri Aranda López, y Ma. Carmen Mendoza López, de la unidad de enseñanza del Instituto de Neurobiología, por su disposición para resolver nuestras dudas administrativas.

A la Lic. Lourdes Ayala de la Unidad de Videoconferencia por su apoyo durante las clases.

A mi comité tutor Dr. Pavel Rueda y Dr. Ranier Gutiérrez, por el tiempo dedicado a escuchar mi proyecto y por todas las aportaciones que permitieron mejorar el proyecto.

A M. en C. Edgar Bolaños Técnico Académico del Laboratorio de Sistemas Sensoriales y Planeación Motora por su trabajo, apoyo y cuidado.

A Sergio Maya Noguez por la asistencia y cuidado de los animales de experimentación del laboratorio B-05.

A mi familia que tanto amo, por su apoyo y acompañamiento en este sueño. A Karla que siempre ha buscado impulsarme y apoyarme en este sueño, a la Karla que siempre ha estado para mí y a mis compañeras del Lab Adri y Marisol que hacen en tiempo mucho más ameno.

# Índice general

1.	Introducción . . . . .	1
2.	Antecedentes . . . . .	1
2.1.	Sobre percepción temporal . . . . .	1
2.2.	Sobre Hipocampo . . . . .	7
3.	Planteamiento del problema . . . . .	9
4.	Hipótesis . . . . .	11
5.	Objetivos . . . . .	11
5.1.	Objetivo General . . . . .	11
5.2.	Objetivos específicos . . . . .	11
6.	Métodos . . . . .	12
6.1.	Sujetos . . . . .	12
6.2.	Tarea del <i>Metrónomo Visual</i> . . . . .	12
6.3.	Localización del sitio de registro . . . . .	14
6.4.	Registros Electrofisiológicos . . . . .	15
6.5.	Análisis de datos. . . . .	16
7.	Resultados . . . . .	20
7.1.	Conductuales . . . . .	20
7.2.	Neuronales . . . . .	23
8.	Conclusión . . . . .	37
9.	Bibliografía . . . . .	39

## 1. Introducción

Los seres vivos nos encontramos en un entorno con múltiples estímulos, los cuales se presentan en distintos órdenes temporales. Percibir estos estímulos que se presentan de manera sincrónica y repetida permite anticiparnos para generar conductas exitosas.

Podemos percibirlos desde escalas temporales tan cortas como los microsegundos hasta escalas tan largas como los ciclos circadianos. Dentro de las escalas temporales podemos encontrar a los milisegundos y segundos en donde se desempeñan actividades como la danza, la ejecución y apreciación musical, practicar deportes e incluso en actividades en donde la supervivencia del individuo se ve involucrada como lo es la caza. Sin embargo, aún no se ha descrito un mecanismo unificador en donde se detalle cómo es que el cerebro percibe estos eventos rítmicos.

Estudios de resonancia magnética han reportado que el procesamiento temporal el cerebelo es una estructura clave y que para el procesamiento de información rítmica son los ganglios basales, sin embargo, la información habida para entender cómo es que se lleva a cabo el procesamiento de los estímulos que se presentan de manera sincrónica y poder responder a ellos de manera exitosa aún no es suficiente.

## 2. Antecedentes

### 2.1. Sobre percepción temporal

El procesamiento de la información temporal está presente en un gran número de organismos y cada uno de ellos ha desarrollado distintos sistemas para lograrlo. Se lleva a cabo en rangos de intervalos muy amplios, que van desde los microsegundos hasta los días, y se ha tratado de entender cómo es que el cerebro codifica el transcurso del tiempo en cada una de las distintas escalas temporales.

## Antecedentes

---

Es sabido que para los rangos de intervalos que se encuentran en la escala de los microsegundos se encuentran la audición binaural que es utilizada para detectar de dónde provienen los sonidos y la ecolocalización que es utilizada por los delfines y los murciélagos para generar una imagen del espacio en el que se encuentran. En la escala de los milisegundos se encuentran conductas como el habla, la percepción y ejecución musical y el control motor. En la escala de los segundos hasta minutos se encuentran conductas como la estimación temporal de manera consciente, la toma de decisiones, operaciones aritméticas y otras más. En la escala más grande que va desde las horas hasta los días se encuentran los ciclos menstruales y cambios metabólicos. (Merchant H, et al., 2013; Buhusi CV & Meck WH, 2005).

Es importante saber cómo es que se lleva a cabo la percepción del tiempo en la escala de los milisegundos ya que gran parte de las actividades que realizamos en nuestra vida cotidiana como la práctica de deportes, la comunicación a través del habla, apreciación y ejecución de música, manejar, atrapar una pelota, jugar videojuegos se ven inmersas en esta escala temporal (Merchant & de Lafuente, 2014).

Se ha reportado que la codificación de la información temporal en la escala de los milisegundo es llevada a cabo en áreas como la corteza medial premotora en donde las cortezas motoras presuplementaria y suplementaria tienen un papel importante en la estimación temporal; corteza frontal mediolateral y áreas más profundas como neostriatum, globo pálido, tálamo, núcleo caudado en estriado y el núcleo dentado en cerebelo (Merchant H, et al., 2011; Egger S, et al., 2019; Kunitatsu J, et al., 2018) representan información temporal a través de su actividad poblacional.

En estas distintas áreas se ha observado diferencias en el procesamiento de la información temporal en milisegundos, es decir, que se han descrito distintos patrones que presentan las poblaciones neuronales dependiendo del área estudiada y con ellos se han propuesto distintos mecanismos a través de los cuales el sistema nervioso es capaz de

predecir cambios en el ambiente que se presentan de manera rítmica.

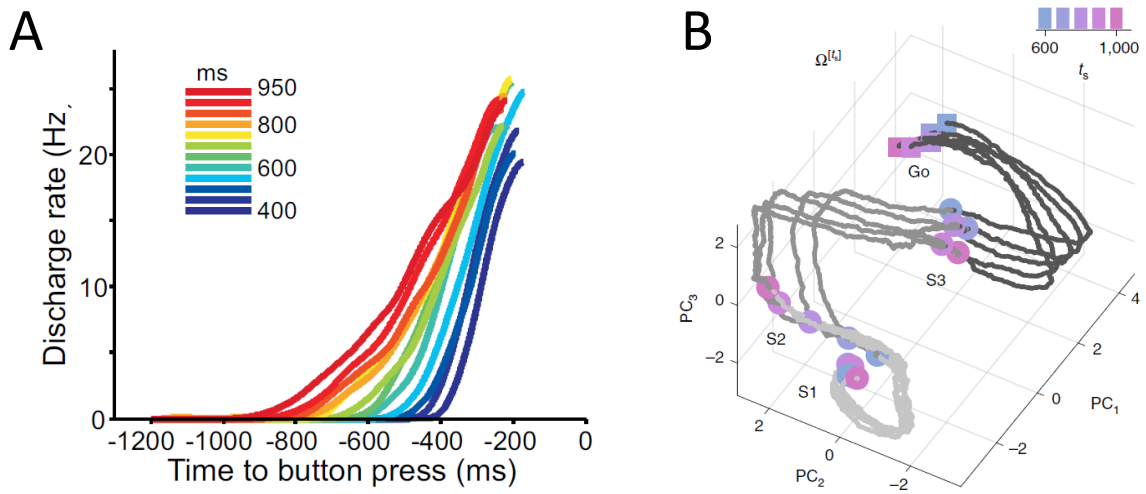
Algunos de los mecanismos propuestos sobre el procesamiento de la información temporal van desde redes neuronales en corteza que oscilan y proyectan al estriado (Matell MS & Meck WH, 2004), trayectorias neuronales corticales que codifican información sensorial y motora para representar eventos de muy corta duración (ms) (Buonomano DV & Maass W, 2009).

Rampas de actividad neocortical en corteza medial premotora en donde el incremento de la tasa de disparo refleja los distintos intervalos temporales (Merchant H, et. al. 2011).

Poblaciones de neuronas en la corteza medial premotora por cada intervalo producido se completa un ciclo en trayectorias neuronales con propiedad de escalabilidad correspondiente a las frecuencias presentadas en una tarea de sincronización - continuación (Gámez J, et. al., 2018) o a través de la dinámica poblacional en la corteza frontal dorso-medial en donde la dinámica poblacional se ajusta a los distintos intervalos que el sujeto tiene que producir (Egger S, et al., 2019) (véase Figura 1).

O bien, rampas de actividad poblacional para una tarea de sacadas temporizadas en estriado en donde la pendiente de activación es inversamente proporcional a la duración de los intervalos a generar, reflejándose en ellas la actividad de preparación para generar un intervalo y midiendo el tiempo transcurrido. Para las neuronas del núcleo dentado del cerebelo, un pico de actividad en el que se generará el movimiento sacádico, representando precisión para la generación de los intervalos (Kunimatsu J et. al., 2018).

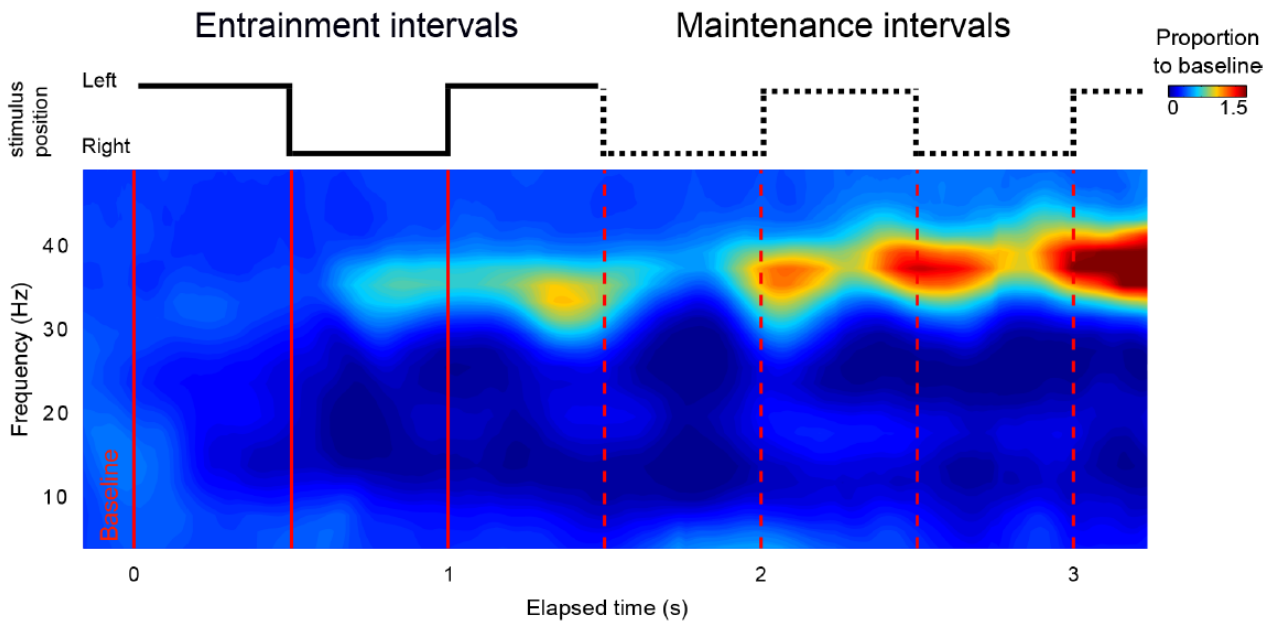




**Figura 1: Mecanismos del procesamiento del tiempo** En A rampas de actividad poblacional alineadas al momento en el que se tiene que presionar un botón para generar intervalos de distinta duración. La actividad de corteza medial premotora que ajustan su tasa de disparo dependiendo del intervalo que se produce, entre mayor sea el intervalo menor será su pendiente. En B trayectorias neuronales de los tres principales componentes de la corteza frontal dorsomedial para una tarea en la que presentan tres flashes (S1, S2 y S3) con un intervalo fijo entre cada uno de ellos, y se tiene que generar un intervalo de la misma duración (Go), es decir, el sujeto tiene que producir un intervalo que previamente midió. Tomado de Merchant, et. al., 2011 y Egger S, et. al., 2019)

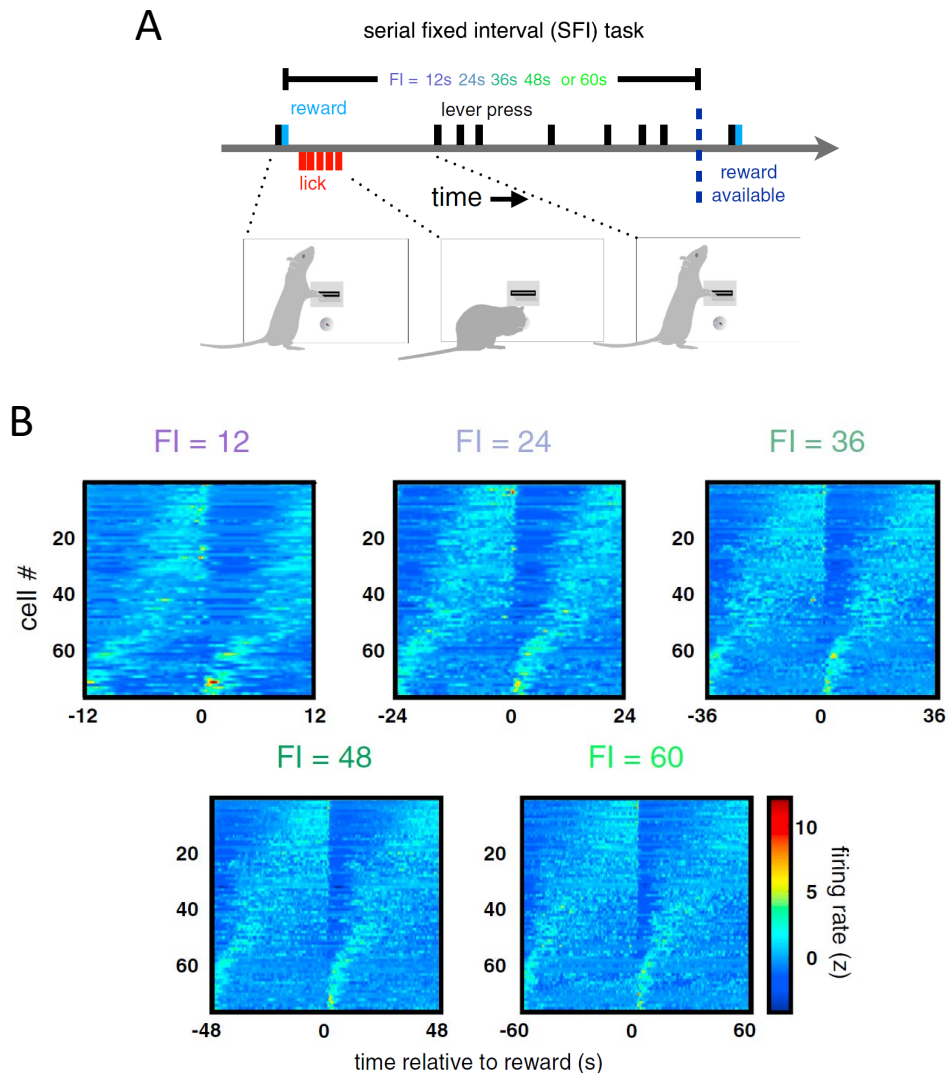
Lo anteriormente descrito se ha enfocado en poblaciones neuronas de distintas áreas corticales. Previo a este trabajo se encontró que el potencial de campo local de la corteza motora suplementaria juega un papel fundamental en el mantenimiento de un ritmo de manera interna.

Para la tarea del *Metrónomo visual* en donde un estímulo se presenta de manera rítmica que cambia de izquierda a derecha y posteriormente desaparece para que se mantenga el ritmo de manera interna, la frecuencia de la banda gamma del potencial de campo local oscila a la misma frecuencia a la que se va presentó el estímulo, es decir, que cuando hay que mantener de manera interna el ritmo la actividad del área motora suplementaria participa en el mantenimiento del ritmo. A través de las oscilaciones de la banda gamma se puede predecir el tiempo transcurrido durante los ensayos.



**Figura 2: Oscilaciones de gamma durante el mantenimiento de un ritmo de manera interna** Espectrograma de la actividad de campo local para una tarea de percepción del ritmo. Las barras continuas representan cuando el estímulo es visible, las punteadas, cuando el estímulo deja de ser visible y se debe de mantener el ritmo. Los colores cálidos representan mayor potencia, los fríos menor potencia. Tomado de Gadena-Valencia, et. al., 2018

Los enfoques de investigación de la percepción temporal se han abordado de muchas maneras. Otro ejemplo es en la corteza prefrontal medial, ensambles de neuronas disparan con distintas secuencias temporales codificando la información temporal (Tiganj Z, et. al., 2017). Así mismo, se han reportado secuencias temporales de neuronas estriatales, las cuales ajustan sus ventanas de máxima activación para que en conjunto midan los intervalos de distinta longitud que se tienen que generar palanqueando (ver Figura 3) (Mello GBM, et. al., 2015).



**Figura 3: Neuronas estriatales** En A se observa el esquema de la tarea conductual, en donde la rata tiene que palanquear durante un intervalo fijo que puede ser de 12, 24, 36 48 o 60 segundos para recibir recompensa. En C los paneles de neuronas estriatales para cada uno de los intervalos reproducidos. Las neuronas se encuentran ordenadas en función del instante de tiempo en donde dispararon. Para cada uno de los intervalos fijos las neuronas mantienen el mismo orden, independientemente de la longitud del intervalo. Los colores cálidos representan la tasa máxima de disparo y los colores fríos la mínima. Adaptado de Mello, et. al., 2015

No sólo el estriado es un área subcortical capaz de representar información temporal, sino que recientemente se ha reportado que el hipocampo también tiene un papel en la estimación temporal. Además de almacenar información posee neuronas que procesan distintos tipos de información incluso la información temporal en tareas de memoria de trabajo.

### 2.2. Sobre Hipocampo

La formación hipocampal siendo una estructura que tiene un papel importante en la memoria espacial (O'Keefe, 2007) no ha sido estudiada en tareas de percepción del tiempo. Es a partir de distintas tareas conductuales relacionadas a la memoria espacial que se han encontrado células con características particulares que codifican información de nuestro entorno y se ve reflejada en su actividad eléctrica, a cada una de estas células se les ha dado un nombre de acuerdo a las características que representan.

Un ejemplo de las células anteriormente mencionadas es: las células de lugar, las cuales representan específicamente un punto en el espacio en el que se encuentra el sujeto, fueron encontradas en modelos murinos por O'Keefe por Dostrovsky en 1971. No sólo se encuentran en murinos, sino también en murciélagos y en monos, compartiendo características a través de las distintas especies, como: la región hipocampal en la que se encuentran (CA1 y subículum), patrones de disparo complejos, subidas en la actividad, con lo cual se puede sugerir que se trata de células piramidales (Harvey et al. 2009; Epsztein et al. 2010).

En el hipocampo de monos se ha reportado que existen células de vista espacial, las cuales disparan cuando el mono está viendo una cierta posición en el espacio, independientemente de la posición que el mono esté ocupando espacialmente. Estas células comparten características similares a las células de lugar, la diferencia radica en la dificultad para lograr identificarlas (Georges-Francois et al. 1999).

Las células de dirección también presentes en la formación hipocampal son neuronas que se activan cuando la cabeza del animal está en cierta dirección. Éstas han sido estudiadas mayormente en modelos murinos y se encuentran presentes en presubículum y corteza medial entorrinal (Taube 2007), característica tal que se mantiene a través de las distintas especies estudiadas (modelos murinos, murciélagos y monos).

## Antecedentes

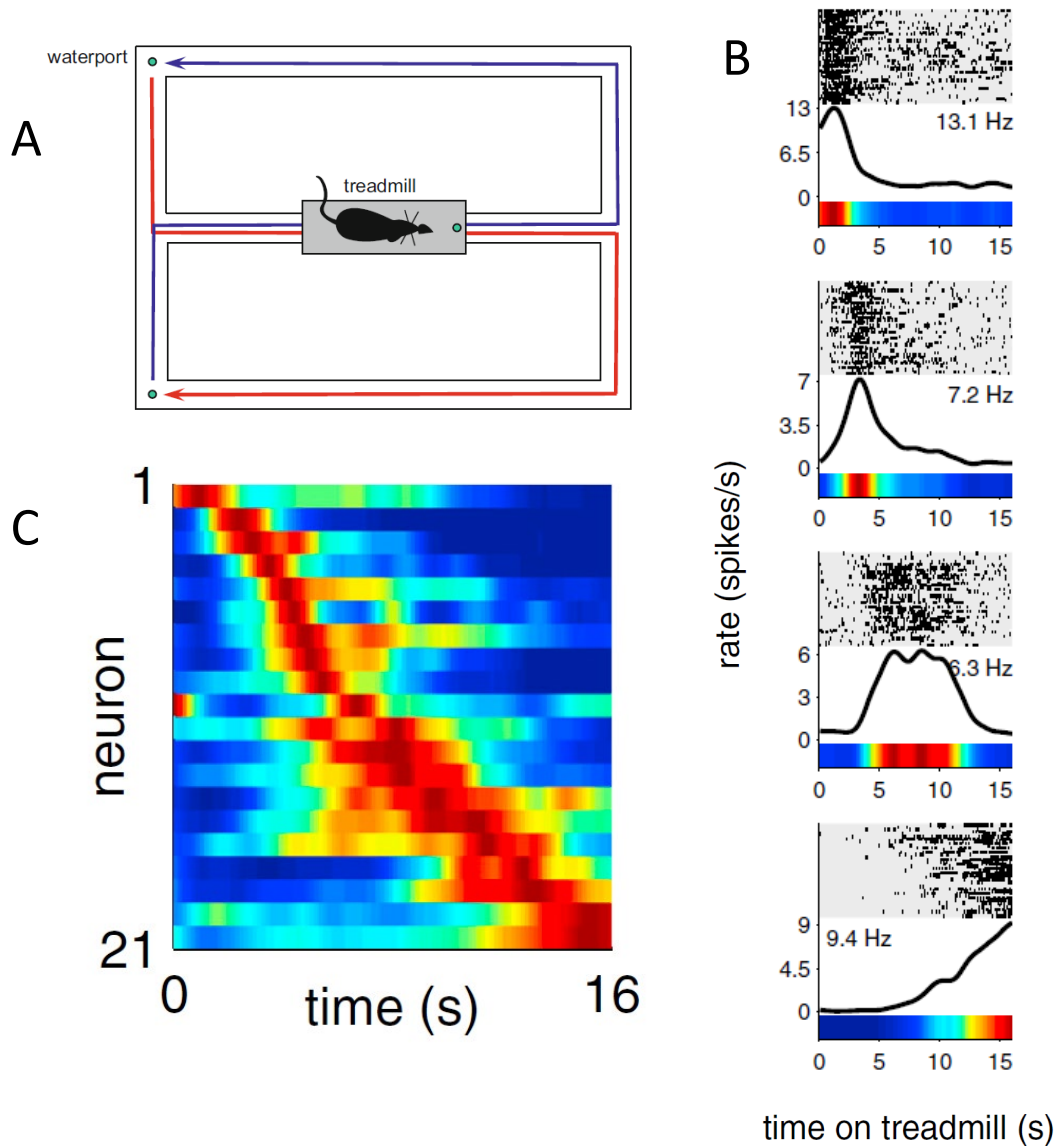
---

Las células de rejilla en donde su actividad refleja periodicidad selectiva en el espacio observado formando una red hexagonal del entorno (Derdikman and Moser 2014), en monos (Killian et al. 2012) al igual que en las células de visión espacial se activan hacia donde está la vista. En las distintas especies que se han estudiado tienen en común que se encuentran en organización columnar en corteza entorrinal, en murinos y murciélagos se sabe que estas células incrementan su tasa de disparo con la velocidad.

Las células de borde reflejan a través de su actividad uno o más bordes del entorno, descritas primero en modelos murinos (Savelli et al. 2008; Solstad et al. 2008) comparten su existencia también con murciélagos. En monos han sido encontradas en ausencia de movimiento, con ayuda de una pantalla (Killian et al. 2012).

Todas estas células anteriormente descritas están implicadas en la codificación espacial del entorno, pero no sólo se ha encontrado estas células en la formación hipocampal, recientemente el grupo de Eichenbaum encontró células que se activan secuencialmente mientras transcurre el tiempo, a las cuales llamó células del tiempo o Time cells (Eichenbaum H, 2014).

Éstas células han sido descritas en tareas de memoria de trabajo en donde un murino tiene que alternar entre el brazo izquierdo y derecho de un laberinto en ocho (véase Figura 4). Éste debe esperar alrededor de 15 segundos en una caminadora al centro del laberinto para realizar el siguiente ensayo, es decir, girar a la izquierda o derecha. Se ha encontrado que en el periodo en el que se está en la caminadora, las células de hipocampo disparan en un momento preciso dentro de los 16 segundos en la caminadora. Estas células presentan selectividad a un instante de tiempo, en conjunto codifican la información temporal a través de la secuencia en la que se van activando (Eichenbaum H, 2014). Tanto en tareas espaciales como de secuenciación de eventos estas células se activan conforme el transcurso del tiempo ocurrido.



**Figura 4: Time cells o células de tiempo en hipocampo** Células del tiempo en una tarea de memoria episódica. En A se observa el esquema de la tarea conductual, en donde la rata tiene que alternar entre brazo izquierdo y brazo derecho, entre cada ensayo debe de correr durante un periodo en una caminadora. En B se presentan cuatro neuronas ejemplo que disparan en un instante únicamente durante el periodo en el que el animal se encuentra corriendo en la caminadora. En C las células que codifican información temporal en hipocampo ordenadas en función del instante de tiempo en donde dispararon, los colores cálidos representan la tasa máxima de disparo y los colores fríos la mínima. Adaptado de Kraus, et. al., 2013

### 3. Planteamiento del problema

La percepción, codificación e integración de la información temporal en el sistema nervioso juega un papel muy importante para llevar a cabo tareas en nuestra vida diaria que

## Planteamiento del problema

---

requieren de precisión, y la importancia de la comprensión de estos mecanismos reside en la interpretación y uso de la ritmicidad de nuestro entorno que tan indispensable es en nuestras vidas.

El conocimiento acerca de los mecanismos de poblaciones encargadas del procesamiento y estimación temporal de futuros eventos en el orden de milisegundos es limitado. Ha sido estudiado en distintas áreas corticales principalmente en cortezas motoras y premotoras, áreas profundas como globo pálido, tálamo, cerebelo y núcleo caudado en estriado, pero aún se desconoce si la actividad del hipocampo se ve involucrada en el procesamiento de la información de eventos temporales.

Dado que la información habida acerca de células que codifican información espacial y temporal en la formación hipocampal hasta consistente a lo largo de distintas especies, ¿se podrá encontrar células con características particulares en la codificación de información espacial en monos? ¿existirán células como las ya antes mencionadas en modelos animales distintos a los murinos?

Teniendo en cuenta que existen células capaces de codificar información temporal en tareas de memoria episódica, es decir en donde el tiempo no es una variable fundamental para que la conducta se desarrolle de una manera exitosa nos preguntamos si éstas podrían participar en la codificación de la información temporal en tareas de la percepción temporal.

Para poder estudiar la percepción rítmica de los cambios en nuestro entorno podemos utilizar herramientas como pruebas psicofísicas. Es sabido que los monos rhesus y los humanos tienen la capacidad de mantener ritmos temporales internamente y reproducirlos (García-Garibay et al., 2016), considerando que estas herramientas son de gran utilidad y lo anteriormente expuesto podemos aproximarnos a conocer más acerca del procesamiento de la información temporal planteándonos la siguiente pregunta: ¿Será posible encontrar actividad neuronal que refleje el transcurso temporal en hipocampo de

monos rhesus para una tarea de percepción del ritmo (*Metrónomo Visual*)?

### **4. Hipótesis**

Si el hipocampo participa en la tarea del *Metrónomo visual*, entonces se encontrará actividad neuronal que permita decodificar el tiempo transcurrido en cada uno de los ensayos.

### **5. Objetivos**

#### **5.1. Objetivo General**

Determinar si la actividad neuronal de la formación hipocampal de monos rhesus codifica el ritmo de la tarea del *Metrónomo visual*.

#### **5.2. Objetivos específicos**

1. Entrenar un mono rhesus en la tarea del *Metrónomo visual*.
2. Caracterizar la respuesta de la conducta del mono en la tarea del *Metrónomo visual*.
3. Registrar potenciales de acción extracelulares en hipocampo de mono rhesus durante la tarea del *Metrónomo visual*.
4. Analizar la actividad neuronal y los patrones de conducta de los sujetos.



### 6. Métodos

Para estudiar cómo es que se lleva a cabo la percepción de ritmos de manera interna se utilizó un modelo animal, una tarea psicofísica de percepción de ritmos y se realizaron registros electrofisiológicos *in vivo* de neuronas de hipocampo.

#### 6.1. Sujetos

Un mono Rhesus macho adulto (*Macaca mulatta*) participó en el estudio (edad: 14 años, 11 kg). El Mono I fue entrenado en la tarea del *Metrónomo Visual*. Los experimentos se realizaron de acuerdo con los lineamientos estipulados por el comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la Universidad Autónoma Nacional de México.

#### 6.2. Tarea del *Metrónomo Visual*

El sujeto fue entrenado en la tarea del *Metrónomo visual* intensamente. Con una duración aproximada de 4 horas por sesión, 6 días a la semana. Realizando aproximadamente  $807 \pm 237$  ensayos por sesión. El sujeto se encontraba sentado en una silla de primates frente a una pantalla LCD con sensores táctiles. A través de una cámara infrarroja (200 Hz, laboratorios Applied Science) se obtuvo la posición de la mirada. Los estímulos fueron generados con el software EXPO (<https://sites.google.com/a/nyu.edu/expo/>).

La tarea del *Metrónomo visual* consiste de tres fases:

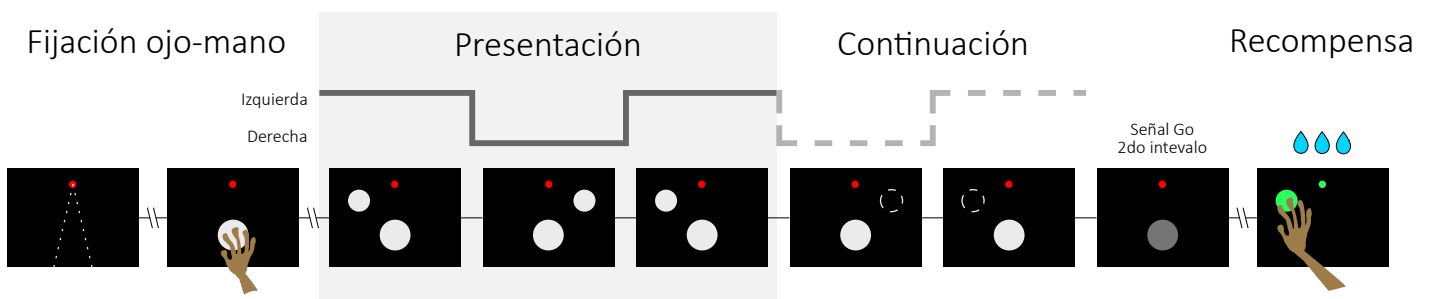
La fase de **Fijación ojo-mano** en la que el mono debe fijar su mirada sobre un punto de color rojo durante durante 500 ms  $\pm 0.2$  DE. Posteriormente se presenta un círculo en medio de la pantalla táctil, sobre el cual el mono debe sostener su mano derecha durante 500 ms  $\pm 0.2$  DE. Si el sujeto retira la mirada del punto de fijación o la mano del círculo del centro, el ensayo se aborta y vuelve a iniciar.

## Métodos

Una vez que es mantenida de manera fija la mirada sobre el punto de fijación y la mano sobre el círculo del centro de la pantalla inicia la *fase de Presentación* en la que se presenta un estímulo circular que cambia de manera isócrona de izquierda a derecha en la pantalla 3 veces. En esta fase el estímulo es visible y se debe de mantener el ritmo al que se está presentando el estímulo.

Seguida por la *fase de Continuación* en la que el estímulo se continúa presentando con la misma periodicidad pero deja de ser visible para el sujeto, es decir, es la fase en la que el sujeto debe imaginar el ritmo. En esta fase se tiene que continuar con la estimación de la posición del estímulo, que puede ir de 1 hasta 6 intervalos.

Posteriormente a la estimación que puede presentarse de uno hasta seis intervalos, el punto de fijación y el círculo del centro de la pantalla desaparecen (señal **Go**) indicando que es momento de responder en qué lugar de la pantalla debió de haber estado. Para hacerlo el mono tiene que realizar un movimiento de alcance sobre la posición de la pantalla en la que se encontraría el estímulo (ya sea del lado derecho o izquierdo). La señal **Go** siempre se presentó a la mitad del último intervalo estimado. Cada ensayo correcto fue recompensado con agua.



**Figura 5: Tarea del Metrónomo Visual** La tarea inicia con el mono colocando la vista sobre el punto de fijación de color rojo, posteriormente debe colocar su mano derecha sobre el círculo al centro de la pantalla. Una vez fijos inicia la *fase de Presentación* en la que se presenta un círculo del lado derecho de la pantalla, alternando tres veces de manera isócrona, posteriormente inicia la *fase de Continuación* en la que el estímulo ya no es visible y se debe mantener el ritmo. Posteriormente se presenta la señal **Go** al oscurecerse el punto de fijación y el círculo del centro de la pantalla, en ese momento el mono responde con un movimiento de alcance hacia donde debió de haber estado el estímulo. Por cada ensayo correcto recibe recompensa

El desempeño fue evaluado por medio de la proporción de respuestas correctas en fun-

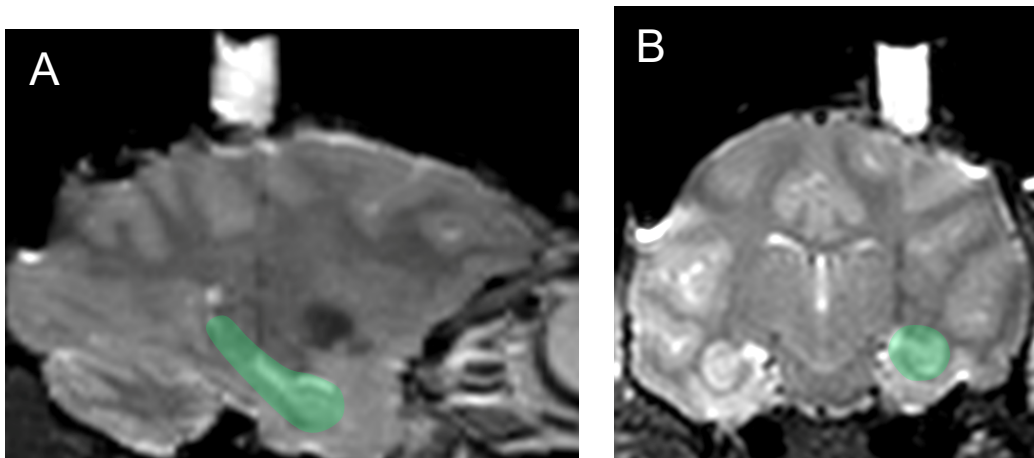
ción del número de intervalos estimados y la duración del intervalo por cada una de las sesiones (ver Figura 12).

Una vez alcanzado un desempeño global por sesión de al menos 80% de respuestas correctas, durante un periodo de 15 días consecutivos se procedió a implantar la cámara de registro.

### 6.3. Localización del sitio de registro

La cámara de registro es un cilindro de 0.8 mm de diámetro que se colocó sobre las coordenadas deseadas. Ésta posee una tapa que es retirada diariamente antes de realizar los registros para introducir la cánula de registro y el electrodo.

La cámara de registro fue colocada mediante cirugía estereotáxica en el hemisferio derecho (ipsilateral al miembro con el que el sujeto respondió en la tarea) en las coordenadas +7 mm anterior a la línea interaural cero (EBZ) y 15 mm medio lateral con respecto a la línea media. La cámara se encuentra descansando sobre la duramadre (Figura 6).

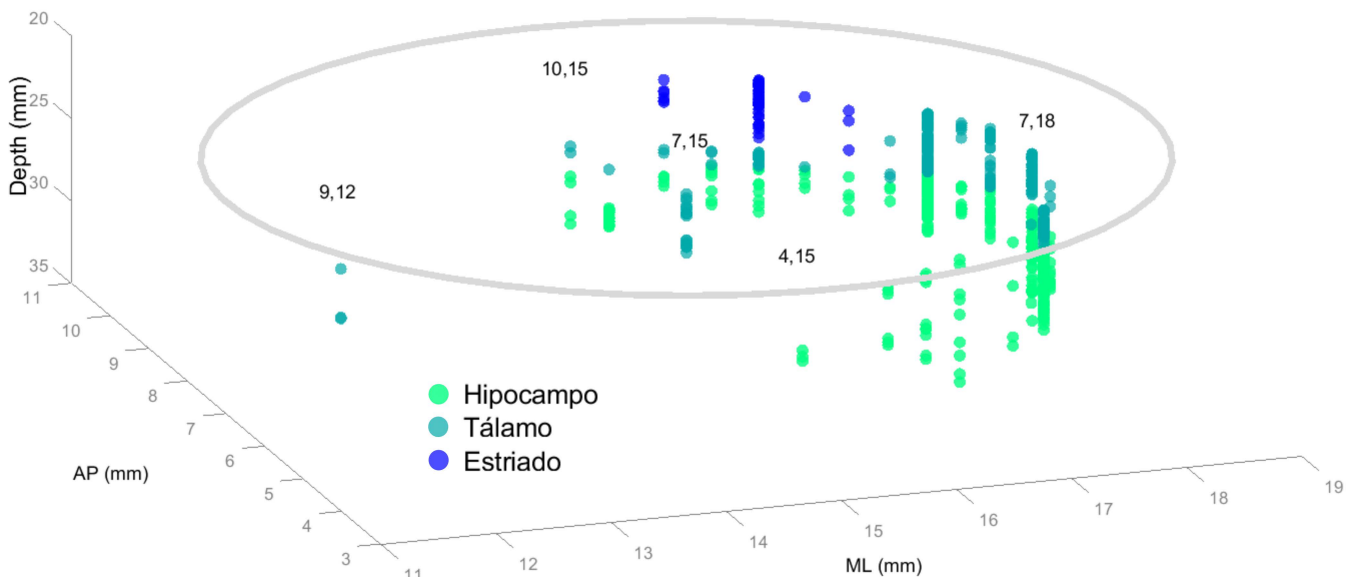


**Figura 6: Imágenes de Resonancia Magnética Funcional** En A se muestra un corte sagital de una resonancia magnética del Mono I, en la parte superior de color blanco se observa la cámara de registro, en la parte inferior de color verde se señala el hipocampo. En B se muestra un corte coronal, al igual que en A se observa la cámara de registro de color blanco y el hipocampo señalado en color verde. En ambos cortes se puede observar la trayectoria de la cánula de registro en la parte más anterior y medial respectivamente.

## 6.4. Registros Electrofisiológicos

Los registros electrofisiológicos extracelulares se realizaron durante 110 días. Una vez que el sujeto se encontraba montado en el set de registro se procedió a colocar una matriz de un microelectrodo móvil ( $2-3M \Omega$ , Thomas Recordings) dentro de la cámara de registro.

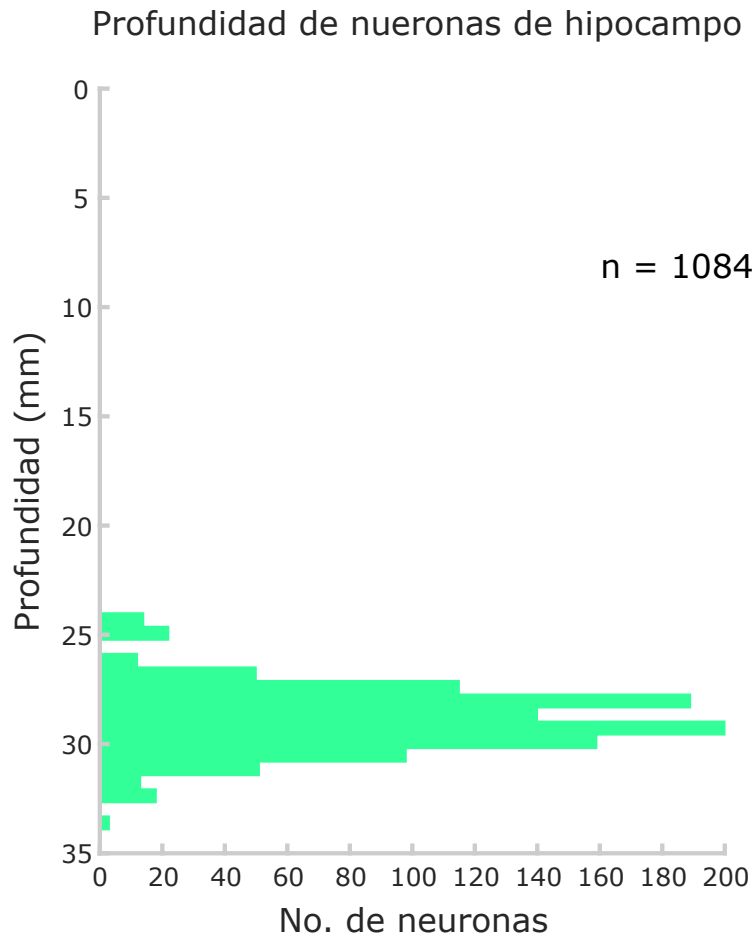
Se avanzó diariamente una cánula de 0.25 mm de luz dentro del cerebro 24 mm, una vez logrando la profundidad deseada se procedió a avanzar el electrodo hasta que se obtuvo actividad unitaria. En cada sitio de registro las espigas fueron aisladas online (Blackrock Microsystems) y muestreadas a 30 KHz. El potencial de campo local fue obtenido por medio de un filtro pasa bandas (Blackrock Microsystems, corte 0.5 - 500 Hz), submuestreado a 1 KHz.



**Figura 7: Imagen representativa de los sitios de registro** Se muestran los sitios de las neuronas registradas correspondientes a distintas áreas. De color gris claro se muestra representada la cámara de registro. En color amarillo se muestran las neuronas correspondientes a hipocampo, en color azul las correspondientes a tálamo y en naranja las correspondientes a estriado.

### 6.5. Análisis de datos

Los análisis fueron programados en MATLAB 2020b (MathWorks). Se clasificó a detalle las neuronas registradas pertenecientes a hipocampo. Se tomó en consideración las mediciones de la resonancia magnética funcional adquirida aproximadamente dos semanas después de iniciar con los registros, junto con las áreas correspondientes al atlas del Cerebro del Mono Rhesus Segunda Edición (Saleem K & Logothetis N, 2012).



**Figura 8: Histograma de profundidad** Profundidad de cada una de las neuronas seleccionadas que pertenecen a hipocampo, de acuerdo las mediciones realizadas a través de la resonancia magnética realizada en el Mono I.

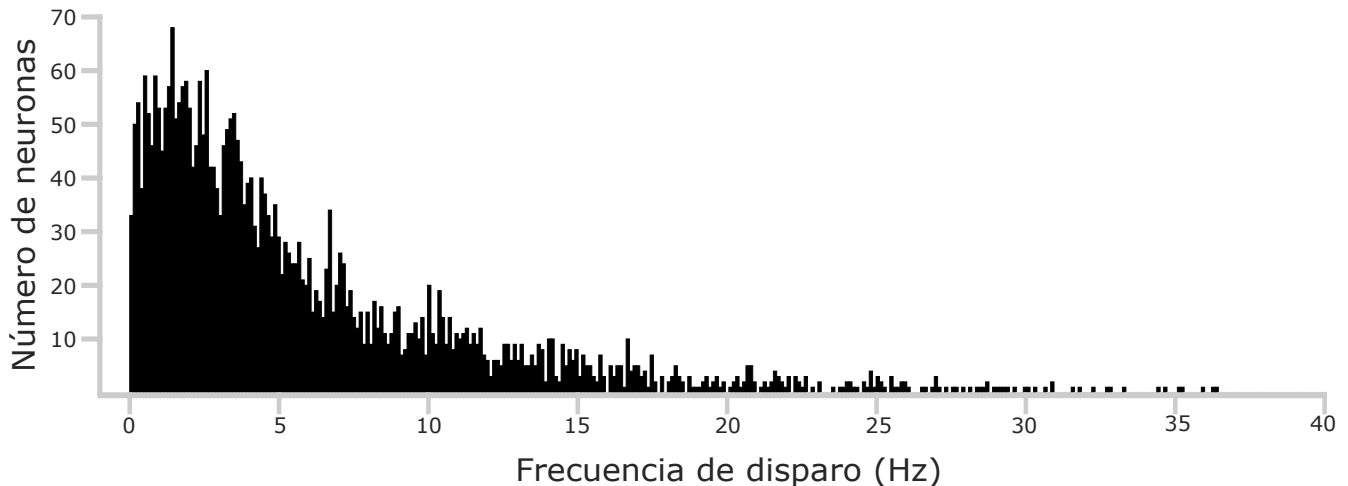
De acuerdo a las mediciones adquiridas de la resonancia y el atlas el hipocampo se encontraba entre 26.7 mm y 33.6 mm de profundidad, variando en la profundidad antero-posterior (véase Figura 7), quedándonos un total de 1084 neuronas (Figura 8).

---

## Métodos

---

Para cada una de las neuronas registradas se obtuvo su frecuencia de disparo (Hz) para todos los ensayos únicamente durante los periodos de *Presentación* y *Continuación* de la tarea del *Metronomo Visual*. En la figura 9 se puede observar que la mayoría de ellas tiene una tasa de disparo entre 1 y 5 Hz. Lo cual concuerda con lo reportado en artículos de registros de hipocampo.



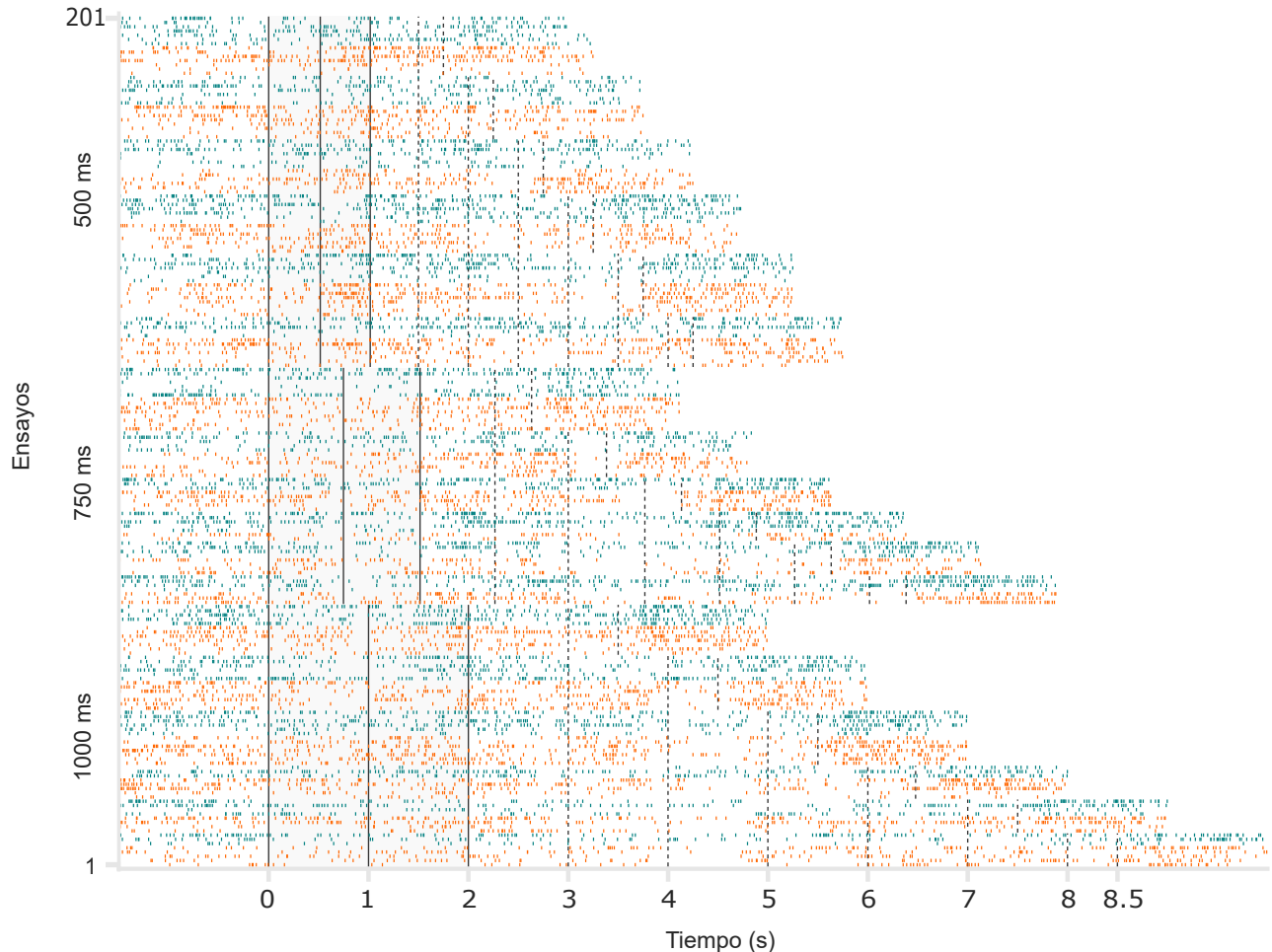
**Figura 9: Histograma de frecuencia de disparo** Frecuencia de disparo en Hz para cada una de las neuronas registradas durante la *fase de presentación* y la *fase de continuación* de la tarea del *Metronomo Visual* que pertenecen a hipocampo.

Para cada una de las neuronas registradas se examinó su actividad y así descartar aquellas que tuvieran una tasa de disparo muy baja, es decir, que en todo el rater únicamente estuvieran 1 o 2 espigas por segundo, mediante la observación de cada una de ellas.

Como primera aproximación, una vez obtenidos los datos de registro, se obtuvo un *rasterplot* (véase Figura 10) para observar qué características a simple vista poseen cada una de las neuronas registradas. Y además se obtuvo la *tasa de disparo*, esto para observar a mayor detalle las características observadas en cada uno de los raster.

En la figura de la siguiente página se presenta el ráster de una neurona ejemplo de hipocampo. En éste los ensayos se encuentran alineados al momento en que se presentó el primer estímulo. En color azul los ensayos que iniciaron del lado izquierdo de la pantalla y en naranja los ensayos que iniciaron del lado derecho de la pantalla. Las líneas continuas

representan cuando el estímulo es visible y las punteadas cuando el estímulo dejó de ser visible.



**Figura 10: Rasterplot de neurona de Hipocampo** Rasterplot de una neurona ejemplo de hipocampo del Mono I. Ensayos alineados a cuando se presentó el primer estímulo de la *fase de Presentación*. Las líneas continuas representan la fase de presentación, las líneas punteadas representan la fase de continuación. Los ensayos están ordenados en función de la frecuencia en la que se presentaron y cuántos intervalos de la fase de continuación se les presentó.

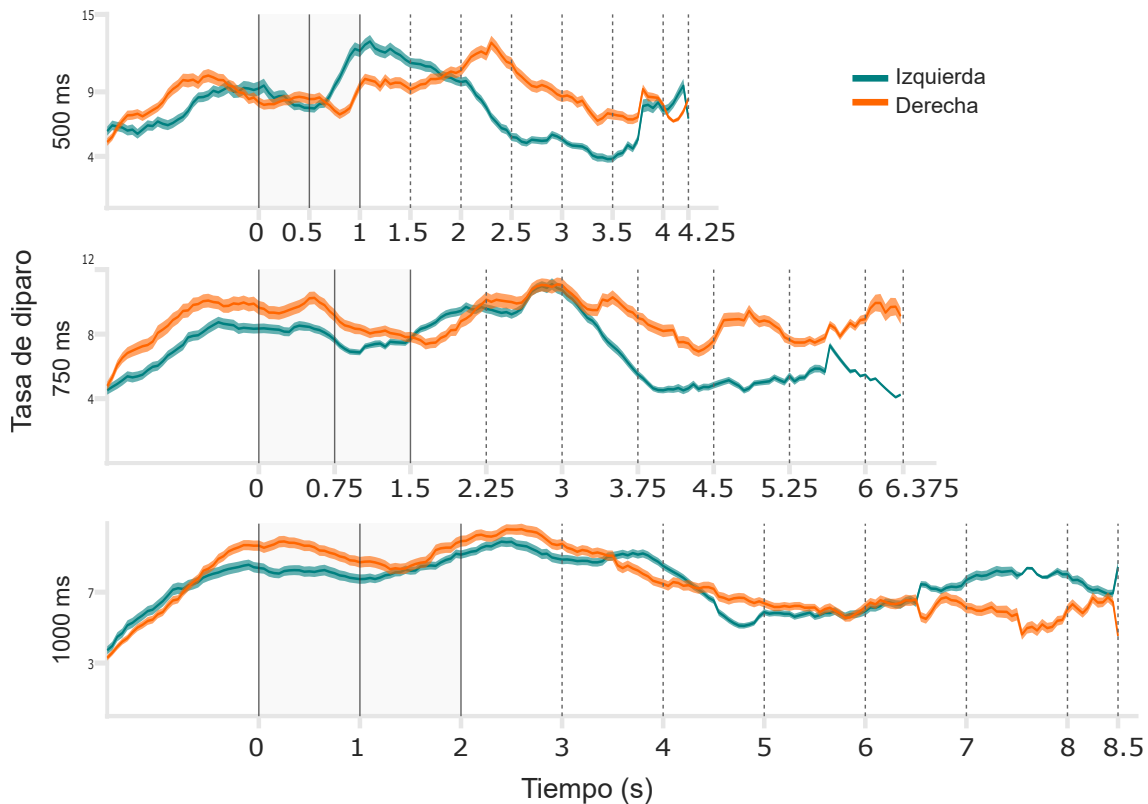
Además, los ensayos se encuentran ordenados en función de la frecuencia a la que fueron presentados, es decir, la tercera parte superior del ráster representa los ensayos presentados con una frecuencia de 500 ms, la tercera parte que se encuentra en medio representa los ensayos presentados con una frecuencia de 750 ms y la tercera parte inferior representa los presentados con una frecuencia de 1000 ms.

Cada uno de los "escalones" observados al final de los ensayos presentados con las

## Métodos

distintas frecuencias representa el número de intervalos, de 1 hasta 6 de la *fase de Continuación*. Las líneas continuas representan los eventos del estímulo cuando es visible, y las punteadas representan cuando el estímulo dejó de ser visible. A simple vista se puede observar que esta neurona tiene una tasa de disparo alta en el momento en el que los estímulos dejan de ser visible y conforme transcurre el tiempo de la tarea su actividad va disminuyendo.

Para poder observar de una manera clara la actividad de esta neurona a continuación se presenta una figura con su tasa de disparo. Para obtener la tasa de disparo se promediaron los ensayos para cada una de las neuronas registradas. Se promediaron los ensayos por condición, es decir, se seleccionaron los ensayos en los que el primer estímulo se presentó del lado izquierdo o derecho de la pantalla para cada una de las frecuencias presentadas: 500 ms, 750 ms o 1000 ms (ver Figura 11).



**Figura 11: Tasa de disparo de neurona de Hipocampo** Tasa de disparo de una neurona ejemplo de hipocampo del Mono I. Actividad promediada por la frecuencia en la que fueron presentados los ensayos y de qué lado iniciaron.



En la figura superior se presenta la tasa de disparo de una neurona ejemplo de hipocampo, en ésta se puede observar la tasa de disparo para cada una de las frecuencias presentadas (500 ms, 750 ms y 1000 ms) separada por el lado de inicio en el que se presentó el estímulo para cada uno de los ensayos (inicio del lado derecho y del lado izquierdo). Lo que podemos observar es que antes de que se presente el primer estímulo hay un aumento en la tasa de disparo y a medida que va transcurriendo el tiempo de los ensayos en la parte de continuación la tasa de disparo comienza a decaer.

## 7. Resultados

La primera sección de los resultados se enfoca en resultados conductuales para la tarea del Metrónomo visual, obtenidos durante las sesiones de registro, que a continuación serán descritos de manera breve.

La segunda sección se enfoca en explorar los patrones de la actividad neuronal de hipocampo durante la tarea del Metrónomo visual. Esta aproximación es utilizada por distintos grupos de investigación dedicados a estudiar la temporalidad inmersa en la actividad neuronal no sólo de hipocampo sino de otras áreas subcorticales.

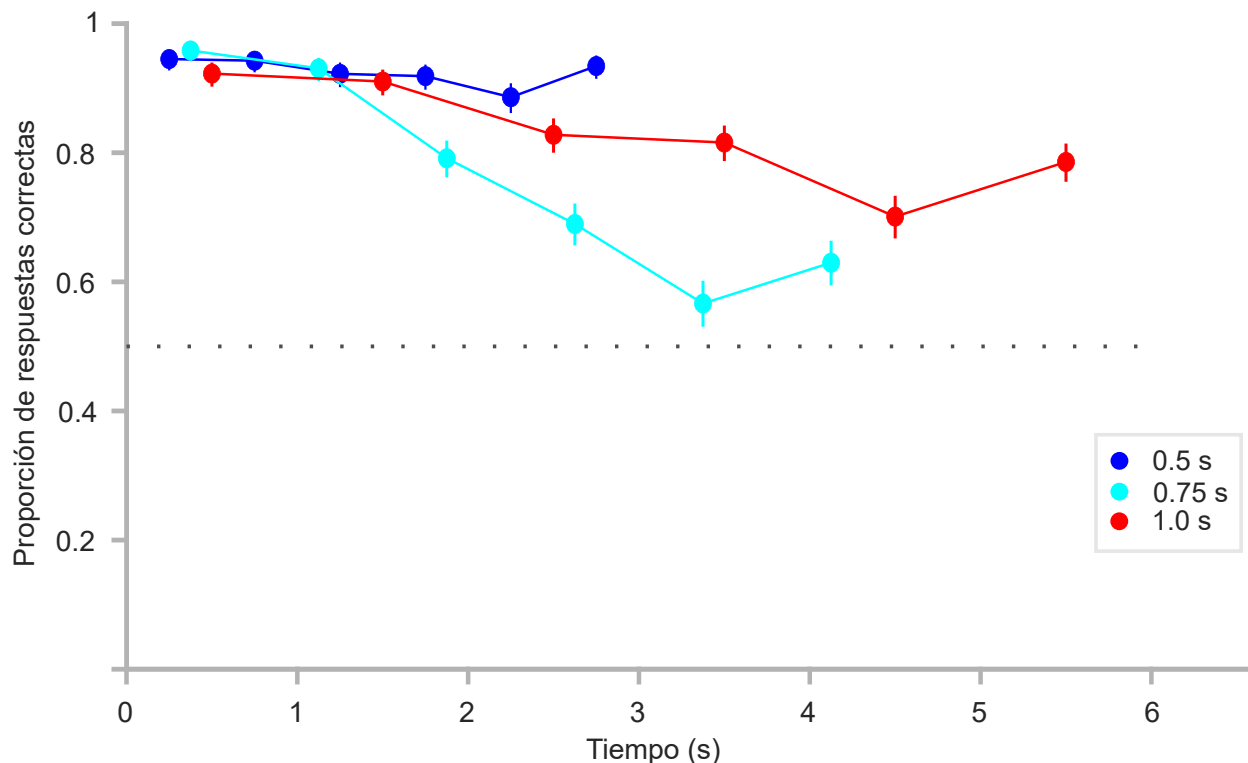
### 7.1. Conductuales

El Mono I fue entrenado de manera continua en la tarea del *Metrónomo Visual* alrededor de 115 sesiones, hasta alcanzar un desempeño por arriba del 80 % antes de realizar los registros. Se realizaron alrededor de 177 sesiones experimentales con registros electrofisiológicos.

A continuación, en la Figura 12 se muestra la proporción de respuestas correctas en función del tiempo, durante la fase *Continuación*, es decir, cuando el estímulo dejó de ser visible y se debe de mantener el ritmo de manera interna. Cada uno de los puntos repre-

## Resultados

senta los intervalos presentados de la fase de *Continuación*, que puede contener de 1 hasta 6 intervalos.



**Figura 12: Desempeño** Desempeño medio para las sesiones experimentales del Mono I en función del tiempo total transcurrido durante la *fase de continuación*. El desempeño por sesión fue evaluado con la proporción de respuestas correctas para cada condición (número de intervalos a estimar y duración del intervalo). Cada color representa las frecuencias presentadas, la línea puntada de color negro representa el azar y las barras de cada punto representan los intervalos de confianza.

La proporción de respuestas correctas se encuentra por encima del azar, indicándonos que el sujeto puede llevar a cabo la tarea y puede mantener un ritmo de manera interna. Observemos que a medida que el número de intervalos estimados incrementa hay un decaimiento en el desempeño debido a que entre mayor sea el tiempo que transcurra mayor es la variabilidad en la estimación del ritmo, es decir, se subestimaré o sobrestimaré el tiempo transcurrido desde que se dejó de ver el estímulo. (García-Garibay et al., 2016).

Al comparar los ensayos presentados con frecuencias cortas, medianas y largas podemos observar que entre mayor sea la frecuencia de los estímulos presentada mayor será el decaimiento del desempeño y esto se debe a que en los ensayos de mediana y larga

## Resultados

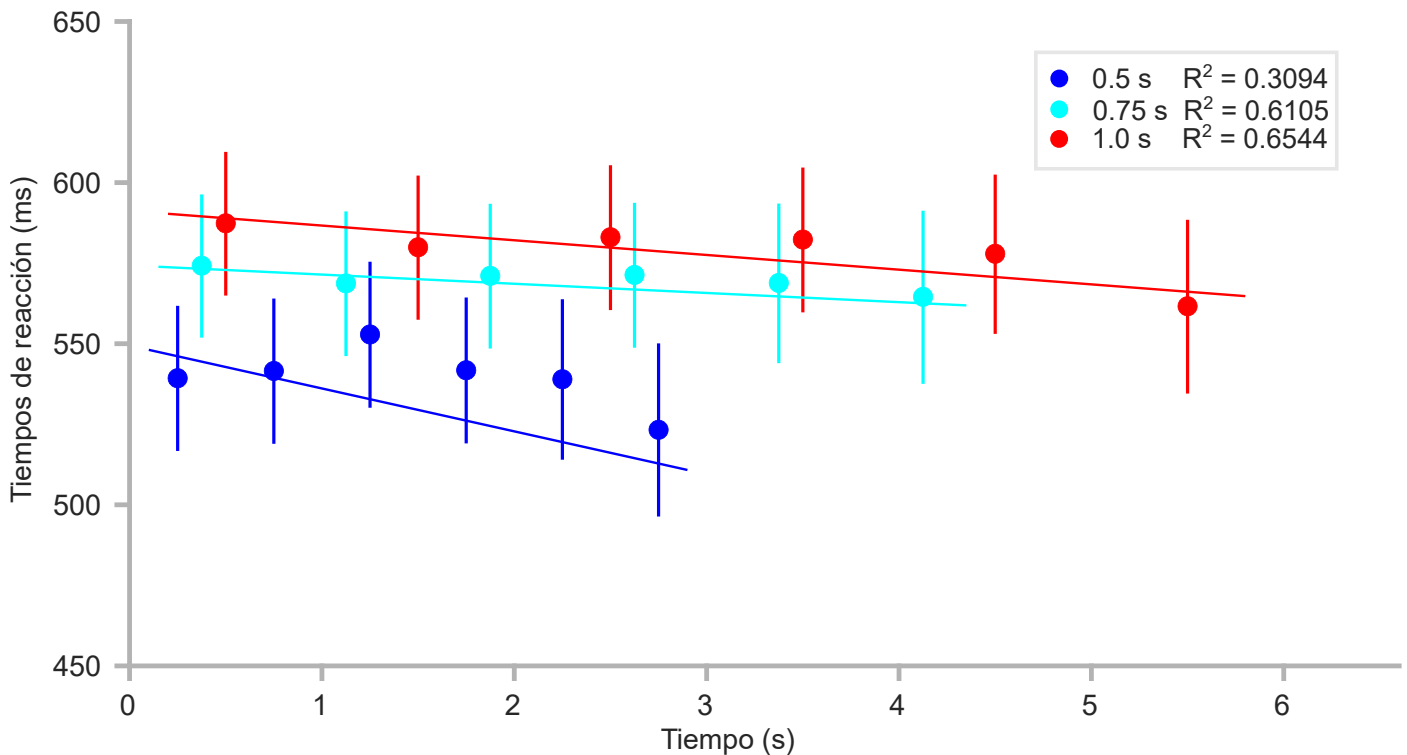
---

duración aumenta 1.5 o 2 veces más el tiempo transcurrido por cada intervalo (p. ej. para el segundo intervalo de los ensayos cortos habrá transcurrido 1 segundo, para los de mediana duración 1.5 segundos y para los largos 2 segundos).

Al tomar en cuenta lo anterior nos podemos preguntar ¿Cuál es la razón del decaimiento observado en mayor medida en los ensayos de 750 ms en comparación con los de 1000 ms que son de mayor duración?

Una posible explicación es que durante el proceso de entrenamiento modificamos la cantidad de recompensa obtenida proporcional a la frecuencia que se presentaba, es decir, mucha recompensa para frecuencia larga, poca recompensa para la frecuencia corta. La ponderación de recompensa para cada tipo de ensayo posiblemente resultó en un cambio de estrategia del sujeto para resolver la tarea. Por lo que los ensayos de corta duración al ser de menor duración se pueden obtener la recompensa en menor tiempo y los largos al obtener mayor cantidad de recompensa, adquirieron mayor importancia.

## Resultados



**Figura 13: Tiempos de reacción** Tiempos de reacción medios para las sesiones experimentales del Mono I una vez presentada la señal go. Cada color representa la frecuencia a la que se presentó el estímulo y cada punto representan los intervalos de la *fase de Continuación*.

Al obtener los tiempos de reacción para contestar correctamente podemos observar que estos se encuentran entre 500 y 600 ms. Estos a su vez no se ven afectados por la cantidad de intervalos que debe de mantener. La disminución del tiempo de reacción para el último intervalo de la *fase de continuación* puede deberse a que los ensayos únicamente tienen hasta seis intervalos, por ende, es muy probable que el último intervalo que se le presente se encuentre en la misma posición de la pantalla del último que fué visible.

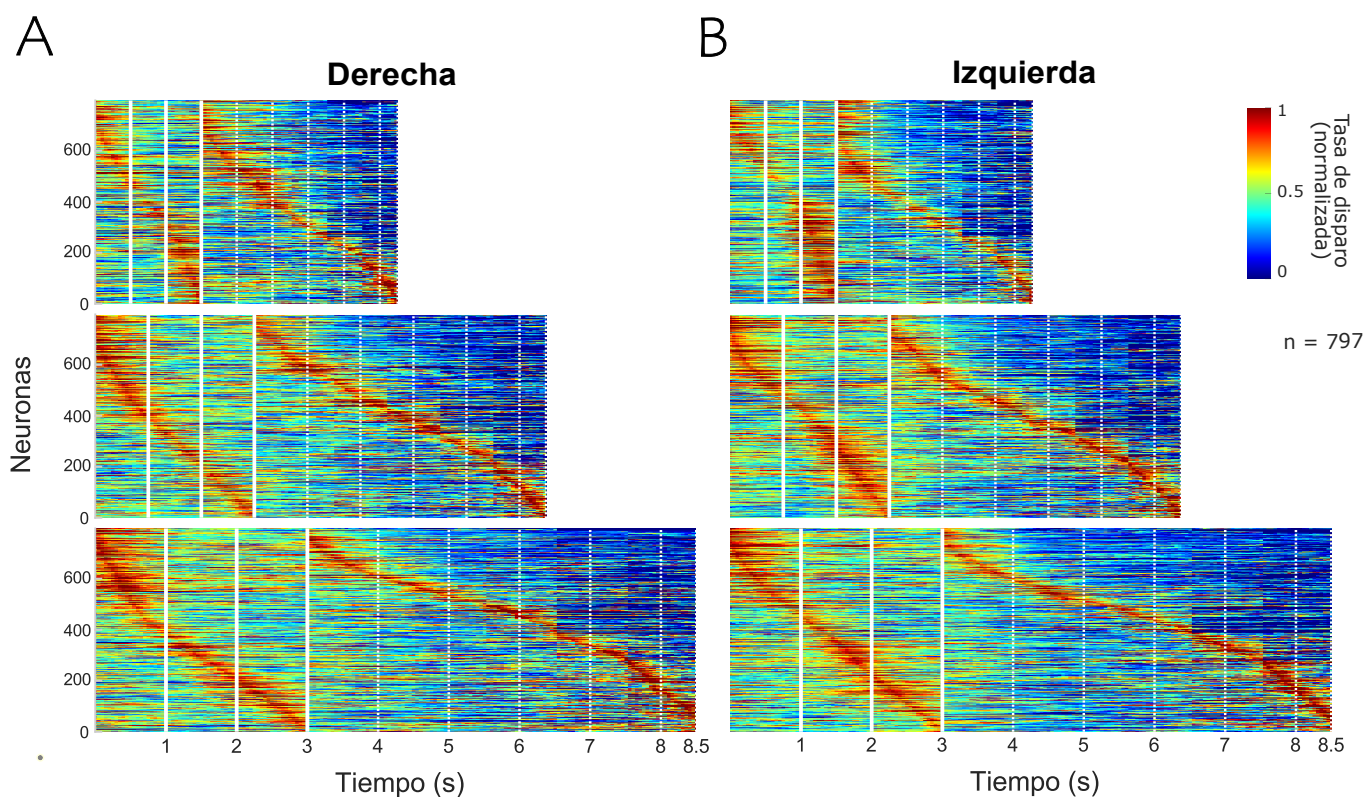
### 7.2. Neuronales

Se ha observado que en hipocampo de modelos murinos las células del tiempo al tener un pico máximo de actividad en una ventana temporal específica, en conjunto cubren todo el intervalo de espera, es decir, representan información temporal durante periodos inter-ensayo en tareas de memoria episódica (Kraus et al, 2013, Eichenbaum H, 2014).

## Resultados

Por lo anteriormente descrito se propuso como análisis exploratorio, buscar algún patrón secuencial de la tasa de disparo máxima en las neuronas de hipocampo para cada una de las fases de la tarea del *Metrónomo visual*.

A continuación en la Figura 14 se presentan las neuronas de hipocampo seleccionadas. Como se describió previamente en los métodos, estas fueron seleccionadas de acuerdo a su tasa de disparo, una vez seleccionadas se ordenaron en función de la máxima actividad para cada una de las condiciones de la tarea.



**Figura 14: Neuronas de hipocampo ordenadas** Se ordenaron las neuronas de hipocampo en función de su pico máximo en el tiempo a lo largo de los ensayos para cada una de las fases principales de nuestra tarea (*presentación y continuación*). En A se encuentran los ensayos iniciados del lado derecho, en B los ensayos iniciados del lado izquierdo. La primera fila de la figura se encuentran los ensayos con una frecuencia de 500 ms, en la segunda fila los ensayos de 750 ms y en la última fila los ensayos de 1000 ms. Para cada una de las condiciones las líneas continuas representan la fase de *presentación*, las líneas punteadas representan la fase de *continuación*. Cada uno de los renglones de cada figura representa una neurona.

Se puede observar que, para cada condición presentada, es decir, el lado de inicio de los ensayos (izquierdo o derecho) para cada frecuencia (500 ms, 750 ms o 1000 ms),

## Resultados

---

las neuronas de hipocampo al ordenarlas en función de su tasa máxima de disparo en el tiempo tapizan todo el intervalo de tiempo transcurrido de las fases de *presentación* y *continuación*, y además, para cada condición presentan un patrón específico.

Para los ensayos que iniciaron del lado derecho de 500 ms aproximadamente la mitad de las neuronas tiene un periodo de mayor activación en el primer intervalo visible y la otra mitad en el último de los intervalos de la fase de *presentación*, es decir, un instante de tiempo antes de que el estímulo dejara de ser invisible.

Esto mismo se observa en mayor proporción cuando los ensayos inician del lado izquierdo de la pantalla, al compararlo con los ensayos que inician del lado derecho de la pantalla (panel A de la figura 14). A detalle se aprecia que la activación de las neuronas es en mayor medida en el último intervalo de la fase de *presentación*.

Una interpretación que se pudiese atribuir a este resultado es que, en conjunto, las neuronas de hipocampo están midiendo el tiempo transcurrido de cada uno de los ensayos, y que, el fin de la fase de *presentación* es relevante para poder llevar a cabo el resto de la tarea correctamente y así obtener recompensa. Una gran cantidad de neuronas presenta un aumento de la actividad en el último periodo en donde el estímulo es visible y pasa a ser invisible.

El orden de activación observado anteriormente para una condición de la tarea podría ser compartido entre el resto de las condiciones, es decir, las secuencias de activación podrían ser las mismas para todas las condiciones, ya que durante el proceso de observación y selección de las neuronas se notó cierta similitud de patrones de disparo de cada una de ellas entre las condiciones de la tarea.

Sin embargo, al obtener este resultado de secuencias temporales que cubren los intervalos de tiempo para cada una de las condiciones de la tarea surge la siguiente pregunta ¿Las secuencias de activación de las neuronas de hipocampo serán compartidas entre

## Resultados

---

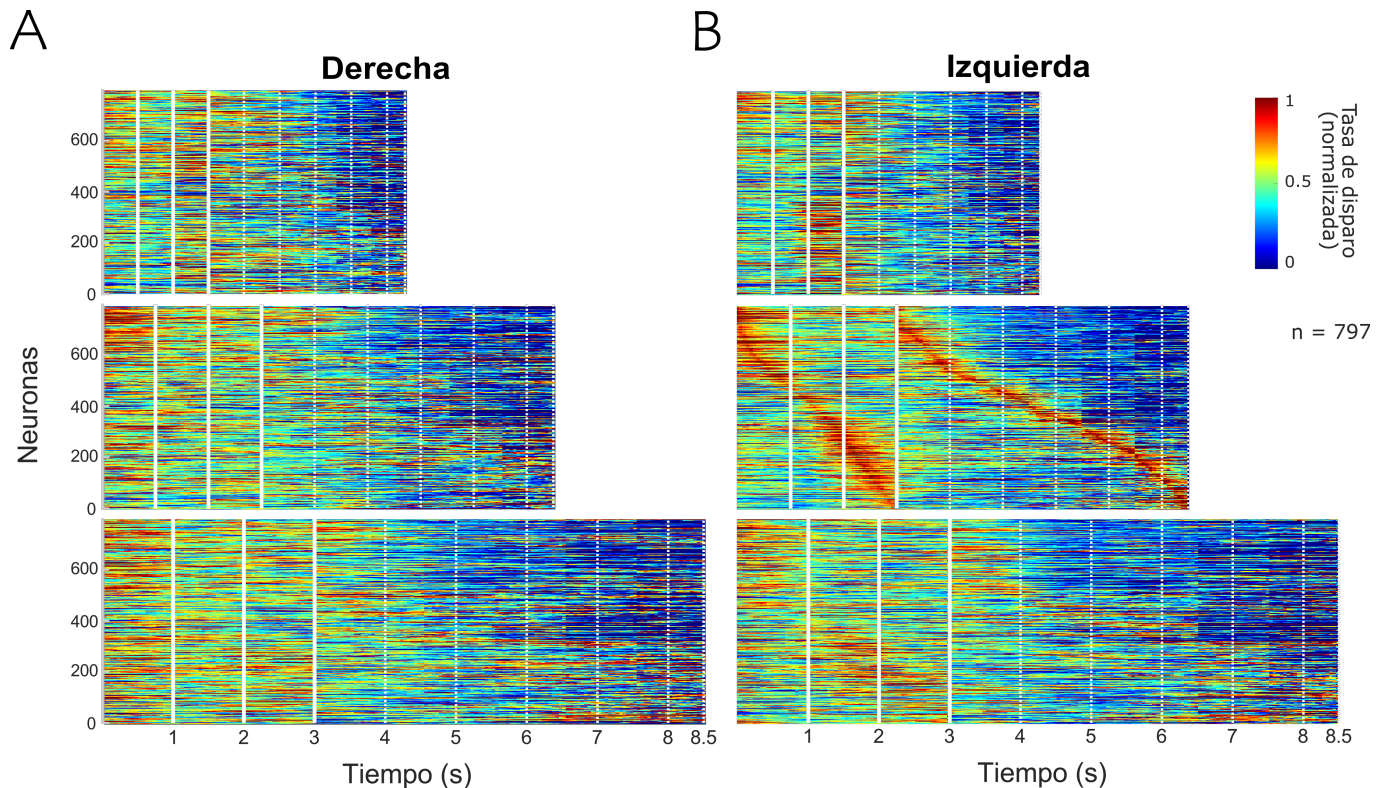
las condiciones de los ensayos presentados? ¿Cada condición de la tarea cuenta con su propia secuencia de activación?

Para responder a la pregunta se utilizaron los índices en los que se encuentran ordenadas las neuronas para cada una de las condiciones experimentales y con estos mismos se ordenaron las neuronas del resto de las condiciones (p. ej. se seleccionaron los índices en el que se ordenan las neuronas conforme a su pico máximo de actividad a lo largo de los ensayos de 500 ms iniciados del lado derecho y ordenamos las neuronas en el resto de las condiciones).

Pastalkova y cols. en el 2008, reportan que para una tarea en la que modelos murinos se colocan en un laberinto en ocho, tienen que alternar entre cada brazo (izquierdo o derecho) para recibir recompensa. Durante el periodo inter-ensayo los sujetos deben de correr en una rueda durante un periodo determinando, guardando en la memoria el giro del ensayo anterior.

Los ensambles neuronales que se encontraron en hipocampo durante el periodo inter-ensayo reflejan patrones específicos de activación que podrían representar información temporal y que a su vez operan como almacén en la memoria de trabajo. La secuencia de activación es específica para cada clase de ensayo que se realizó.

## Resultados



**Figura 15: Neuronas de hipocampo ordenadas en función de una condición** Se ordenaron las neuronas de hipocampo en función de la secuencia en la que fueron disparando las neuronas para los ensayos presentados con una frecuencia de 500 ms que iniciaron del lado izquierdo de la pantalla. En A se encuentran los ensayos iniciados del lado derecho, en B los ensayos iniciados del lado izquierdo. En la primera fila se encuentran los ensayos con una frecuencia de 500 ms, en la segunda fila los ensayos de 750 ms y en la última fila los ensayos de 1000 ms. Para cada una de las condiciones las líneas continuas representan la fase de *presentación*, las líneas punteadas representan la fase de *continuación*. Cada uno de los renglones representa una neurona.

En la figura 15 a manera representativa se muestra la secuencias de activación tomando el orden para la condición de inicio en izquierda con una frecuencia de 750 ms. Se muestra que para cada condición experimental presentada no se mantienen las mismas secuencias de activación, no obstante, a simple vista los ensayos que iniciaron del mismo lado ligeramente mantienen el orden de activación, lo cual es mas notorio para los ensayos iniciados del lado izquierdo con una frecuencia de 1000 ms.

Los resultados encontrados en hipocampo para una tarea de percepción del ritmo muestran que los patrones de activación en secuencia son únicos para cada una de las condiciones en hipocampo para una tarea de percepción del ritmo.



## Resultados

---

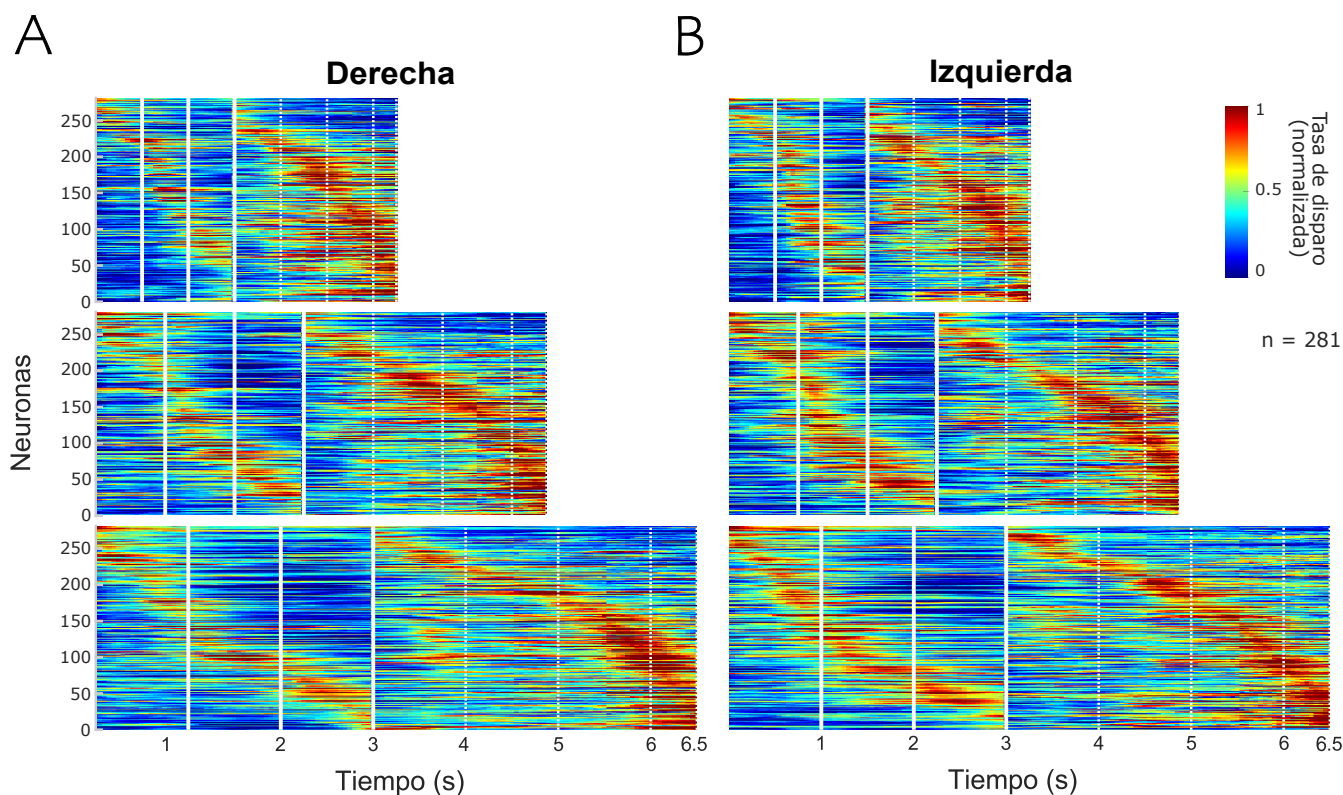
Sin embargo, no sólo en hipocampo se han reportado estas secuencias de activación que representan información temporal sino también en otras áreas como corteza prefrontal medial (Tiganj Kim, et al., 2017) y estriado (Akhlagpour, et al., 2016; Mello Soares & Paton, 2015; Jin Fujii & Graybiel, 2009). Al tomar en cuenta lo anterior surgen las siguientes preguntas ¿los resultados observados serán únicos de áreas subcorticales? ¿se encontrarán en áreas corticales además de la corteza prefrontal medial?

Por lo que a continuación se procedió a replicar los análisis anteriores en datos de otras áreas obtenidos previamente, además de hipocampo, durante la misma tarea de percepción del ritmo. Para las áreas previamente registradas se buscó si presentan secuencias de activación que cubran todo el tiempo de los ensayos presentados para cada condición de la tarea.

A continuación en la figura 16 como ejemplo representativo, se muestran las neuronas del área motora presuplementaria ordenadas en función de la máxima actividad para cada una de las condiciones de la tarea.

Al igual que las neuronas de hipocampo, las del área motora presuplementaria, al ordenarlas cubren todo el intervalo de tiempo de la fase de *presentación* y la fase de *continuación*.

## Resultados



**Figura 16: Neuronas del área motora presuplementaria ordenadas** Se ordenaron las neuronas del área motora presuplementaria en función de la secuencia en la que fueron disparando las neuronas para los ensayos presentados con una frecuencia de 500 ms que iniciaron del lado izquierdo de la pantalla. En A se encuentran los ensayos iniciados del lado derecho, en B los ensayos iniciados del lado izquierdo. En la primera fila se encuentran los ensayos con una frecuencia de 500 ms, en la segunda fila los ensayos de 750 ms y en la última fila los ensayos de 1000 ms. Para cada una de las condiciones las líneas continuas representan la fase de *presentación*, las líneas punteadas representan la fase de *continuación*. Cada uno de los renglones representa una neurona.

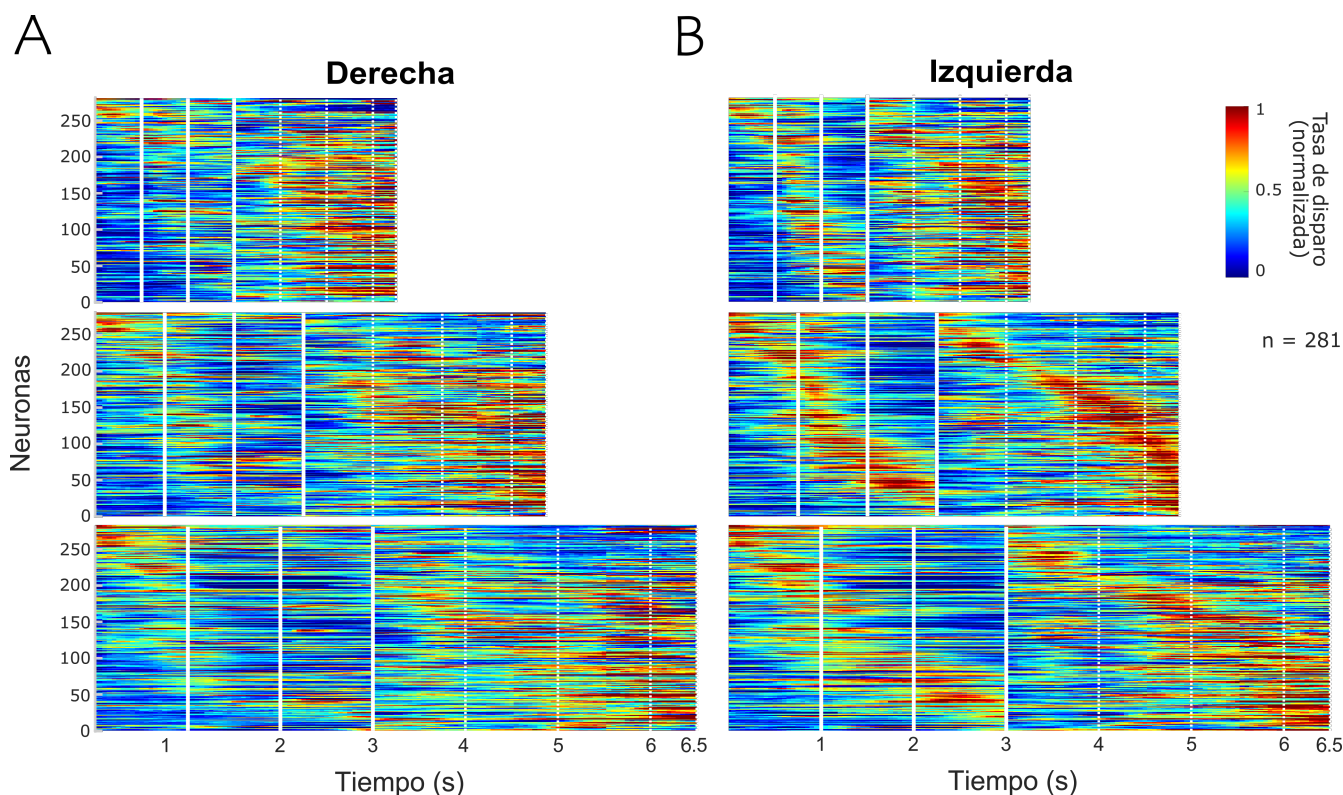
En las neuronas del área motora presuplementaria al contrastar la actividad máxima entre las fases de la tarea, se observa que es mayor en la fase *continuación*, y además, al finalizar el cuarto intervalo presentado hay un aumento de la actividad.

Al contrastar el área motora presuplementaria con hipocampo, se puede observar que las secuencias de activación presentan distintos patrones de activación, las ventanas de máxima actividad de las neuronas del área motora presuplementaria son más anchas en ambas fases de la tarea en contraste de las de hipocampo, y al ordenarlas forman una línea casi recta en la fase de *presentación*.

Se puede observar que las neuronas del área motora presuplementaria poseen una gran

## Resultados

cantidad de neuronas que se activan en el segundo intervalo de la fase de *presentación* cuando los ensayos inician del lado izquierdo, es decir cuando el estímulo es visible y se encuentra del lado derecho de la pantalla.



**Figura 17: Neuronas del área motora presuplementaria ordenadas en función de una condición** Se ordenaron las neuronas del área motora presuplementaria en función de su pico máximo en el tiempo a lo largo de los ensayos para cada una de las fases principales de nuestra tarea (*presentación y continuación*). En A se encuentran los ensayos iniciados del lado derecho, en B los ensayos iniciados del lado izquierdo. En la primera fila se encuentran los ensayos con una frecuencia de 500 ms, en la segunda fila los ensayos de 750 ms y en la última fila los ensayos de 1000 ms. Para cada una de las condiciones las líneas continuas representan la fase de *presentación*, las líneas punteadas representan la fase de *continuación*. Cada uno de los renglones de cada representa una neurona.

En la Figura 17 se tomó el orden en el que se encontraban las neuronas para los ensayos presentados con una frecuencia de 750 ms que iniciaron del lado izquierdo de la pantalla. Los patrones en los que fueron disparando cada una de las neuronas se mantienen en su mayoría en ambas fases de la tarea (*presentación y continuación*) cuando el primer estímulo se presentó del lado izquierdo de la pantalla.

Para los ensayos en los que el estímulo fue presentado del lado derecho de la pantalla

## Resultados

---

se puede observar que los patrones de activación se mantienen al inicio de la fase de *presentación* y al final de la fase de *continuación*.

Al tomar el orden de las neuronas para una de las condiciones de la tarea y aplicarlos en el resto de la tarea para las neuronas del área motora presuplementaria se puede observar que las secuencias neuronales reflejan patrones de activación que se mantienen en mayor medida independientemente de la condición en la que fueron presentados los ensayos.

El mantenimiento de estas secuencias temporales a través de las distintas frecuencias en que se presentó el estímulo reflejan escalabilidad, es decir, el orden en el que dispararon las neuronas hasta cubrir en su totalidad cada uno de los ensayos se mantiene, aumentando el tamaño de la ventana de tasa máxima de disparo en función de la frecuencia presentada.

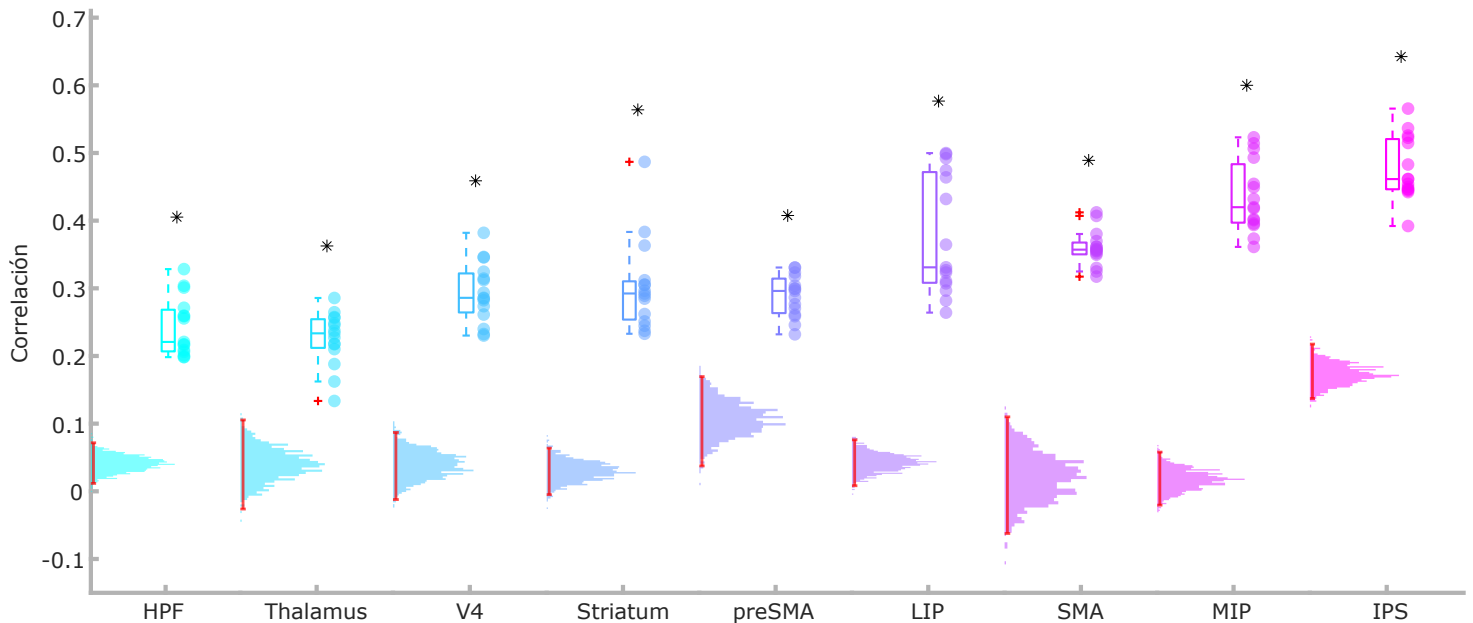
Al observar las características que poseían cada una de las áreas registradas se procedió a realizar un contraste para cada una de ellas de manera cuantificable por lo que a continuación en la figura 18 se muestra la correlación de las neuronas en función de las secuencias que presentaron para cada una de las condiciones de la tarea. Es decir,

Para cada una de las áreas se tomó la tasa de disparo de todas las neuronas durante todo el ensayo, se ordenaron en función de cómo fueron disparando para una condición y se obtuvo la correlación contra el resto de las condiciones, es decir, se obtuvo la correlación entre la matriz de tasas de disparo de las neuronas ordenadas de una condición y la matriz de tasas de disparo tomando el orden de la condición elegida. En total se obtuvieron 18 valores de correlación para cada área.

Se obtuvieron las distribuciones de correlación aleatorizando el orden en que se presentaban las secuencias para cada una de las áreas y para cada distribución se obtuvieron los intervalos de confianza de 99 %.

# Resultados

## Ensayo completo



**Figura 18: Correlación de secuencias de activación** Los valores de correlación entre todas las condiciones de la tarea para cada una de las áreas. Los histogramas muestran las correlaciones de las secuencias al azar. Los boxplot representan los percentiles 25 %, 75 % y la mediana de los valores de correlación. La línea roja para cada distribución muestra los intervalos de confianza de 99 %. Los asteriscos representan  $p < 0.001$ . Las etiquetas para cada área son: Hipocampo (HPF), Tálamo (Thalamus), V4 (Corteza Visual 4), Striatum (Estríado), preSMA (Área Motora Presuplementaria), LIP (Área Lateral Intraparietal), SMA (Área Motora Suplementaria), MIP (Área Medial Intraparietal), IPS (Surco Intraparietal)

En la figura 18 se observan los coeficientes de correlación de mantenimiento de secuencias entre condiciones para cada una de las áreas registradas durante la fase de *presentación* y *continuación*, es decir durante el periodo del ensayo completo. La media de los coeficientes de correlación para cada una de las áreas fue significativamente mayores ( $p < 0.001$ ) con respecto a los obtenidos de una aleatorización del orden de las secuencias de disparo de las neuronas para cada una de las áreas.

Se puede observar que para el hipocampo los coeficientes de correlación de las secuencias temporales observadas se encuentran cercanos a 0.3, es decir, las secuencias temporales mantenidas entre condiciones son bajas. En comparación con otras áreas como el área motora suplementaria, el área medial intraparietal o el surco intraparietal.

## Resultados

---

Los resultados anteriores sugieren que los patrones de activación en hipocampo son únicos independientemente del tipo de ensayo que se esté presentando por lo que ¿Los patrones de activación serán iguales entre cada una de las fases de la tarea (fase de *presentación* o *continuación*)?

Para responder a la pregunta se obtuvieron los coeficientes de correlación del mantenimiento de las secuencias temporales entre condiciones durante la fase de *presentación* de cada una de las condiciones contra el resto.

En la figura 19 se muestran los coeficientes de correlación durante la fase de *presentación*. La media de éstos para cada una de las áreas fue significativamente mayor ( $p < 0.001$ ) con respecto a los obtenidos de una aleatorización del orden de las secuencias de disparo de las neuronas para cada una de las áreas.

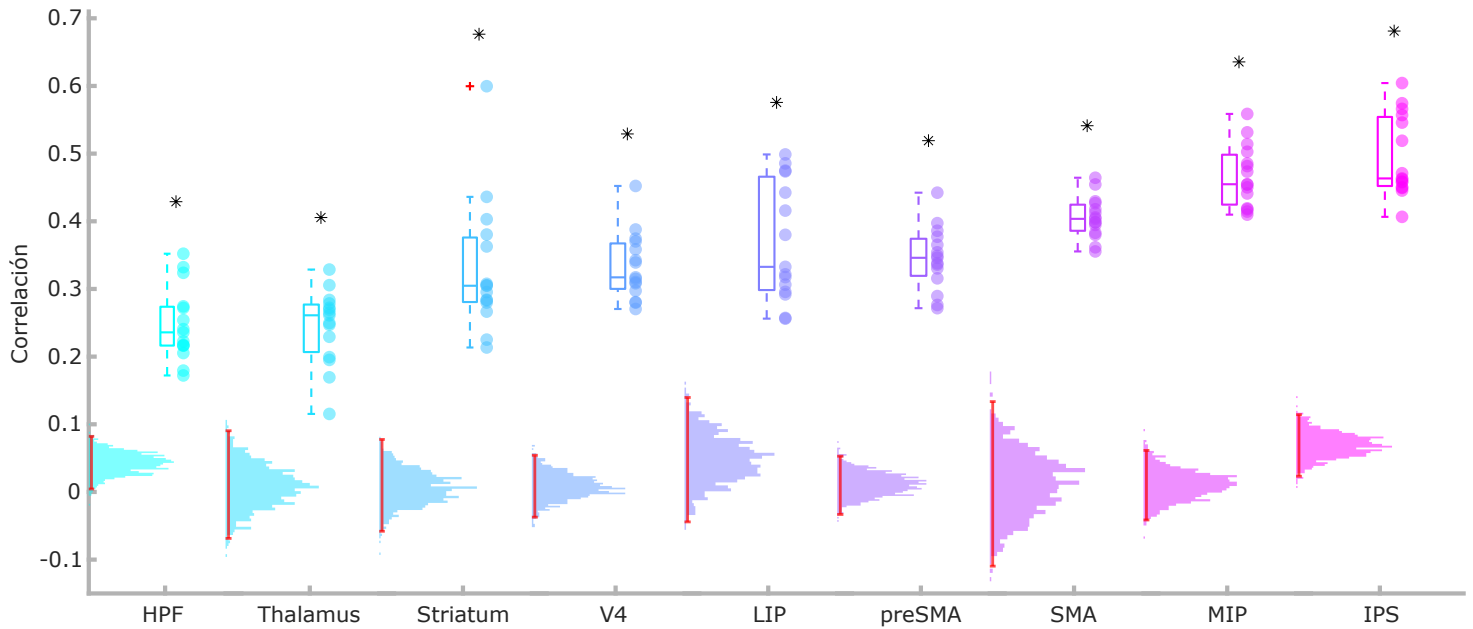
En ésta se puede observar que para hipocampo las secuencias de activación se mantienen en menor medida con respecto al resto de las áreas, sugiriendo que el hipocampo posee la característica de presentar secuencias temporales únicas para cada condición presentada durante la tarea.

En contraste para el área medial intraparietal o el surco intraparietal presentan unos coeficientes de correlación mucho mayores que hipocampo, sugiriendo que la actividad de éstas dos áreas posee la característica de mantener las secuencias de activación independientemente de la condición en la que se encuentre el ensayo.

Así mismo, se obtuvieron los coeficientes de correlación del mantenimiento de las secuencias temporales entre condiciones para la fase de *continuación*. En la figura 20 se presentan los coeficientes de correlación durante la fase de *continuación*; y la media de éstos para cada una de las áreas fue significativamente mayor ( $p < 0.001$ ) con respecto a los obtenidos de una aleatorización del orden de las secuencias de disparo de las neuronas para cada una de las áreas.

# Resultados

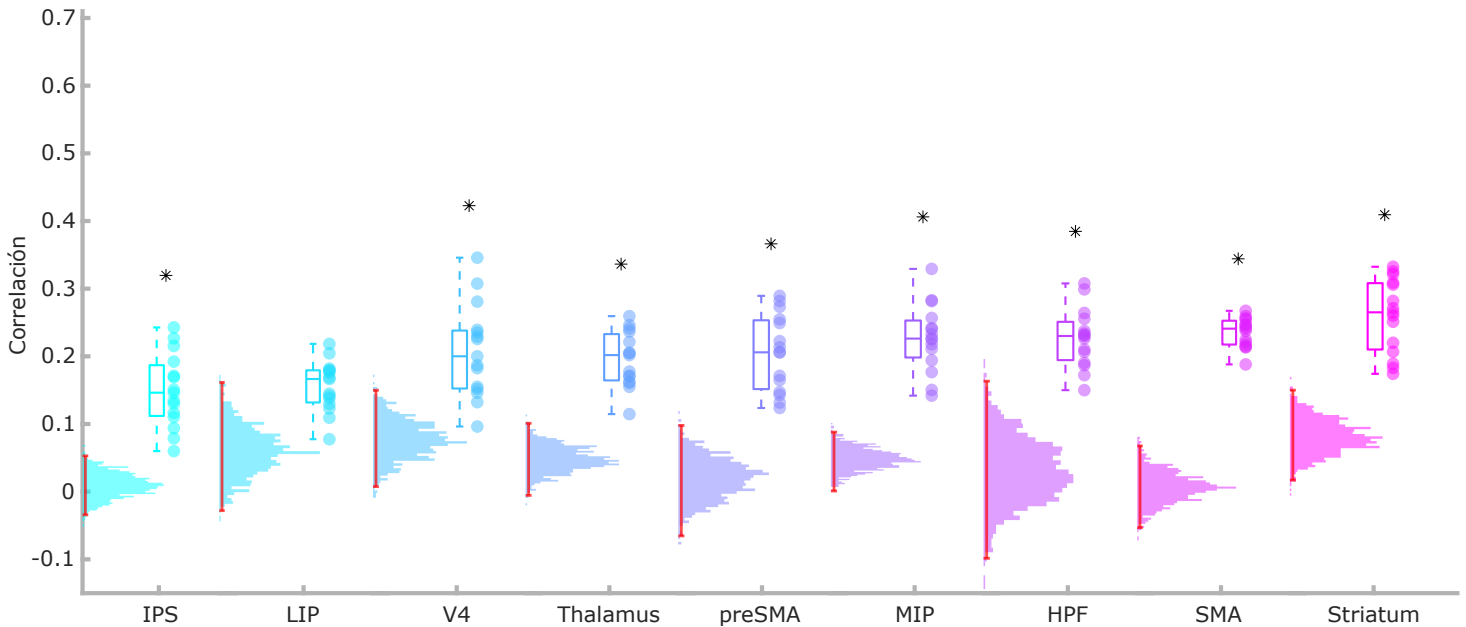
## Fase de Presentación



**Figura 19: Correlación de secuencias de activación de la fase de Presentación** Los valores de correlación entre todas las condiciones de la tarea para cada una de las áreas. Los histogramas muestran las correlaciones de las secuencias al azar. Los boxplot representan los percentiles 25%, 75% y la mediana de los valores de correlación. La línea roja para cada distribución muestra los intervalos de confianza de 99%. Los asteriscos representan  $p < 0.001$ . Las etiquetas para cada área son: Hipocampo (HPF), Tálamo (Thalamus), V4 (Corteza Visual 4), Striatum (Estriado), preSMA (Área Motora Presuplementaria), LIP (Área Lateral Intraparietal), SMA (Área Motora Suplementaria), MIP (Área Medial Intraparietal), IPS (Surco Intraparietal)

# Resultados

## Fase de Continuación



**Figura 20: Correlación de secuencias de activación de la fase de Continuación** Los valores de correlación entre todas las condiciones de la tarea para cada una de las áreas. Los histogramas muestran las correlaciones de las secuencias al azar. Los boxplot representan los percentiles 25%, 75% y la mediana de los valores de correlación. La línea roja para cada distribución muestra los intervalos de confianza de 99%. Los asteriscos representan  $p < 0.001$ . Las etiquetas para cada área son: Hipocampo (HPF), Tálamo (Thalamus), V4 (Corteza Visual 4), Striatum (Estriado), preSMA (Área Motora Presuplementaaria), LIP (Área Lateral Intraparietal), SMA (Área Motora Suplementaria), MIP (Área Medial Intraparietal), IPS (Surco Intraparietal)

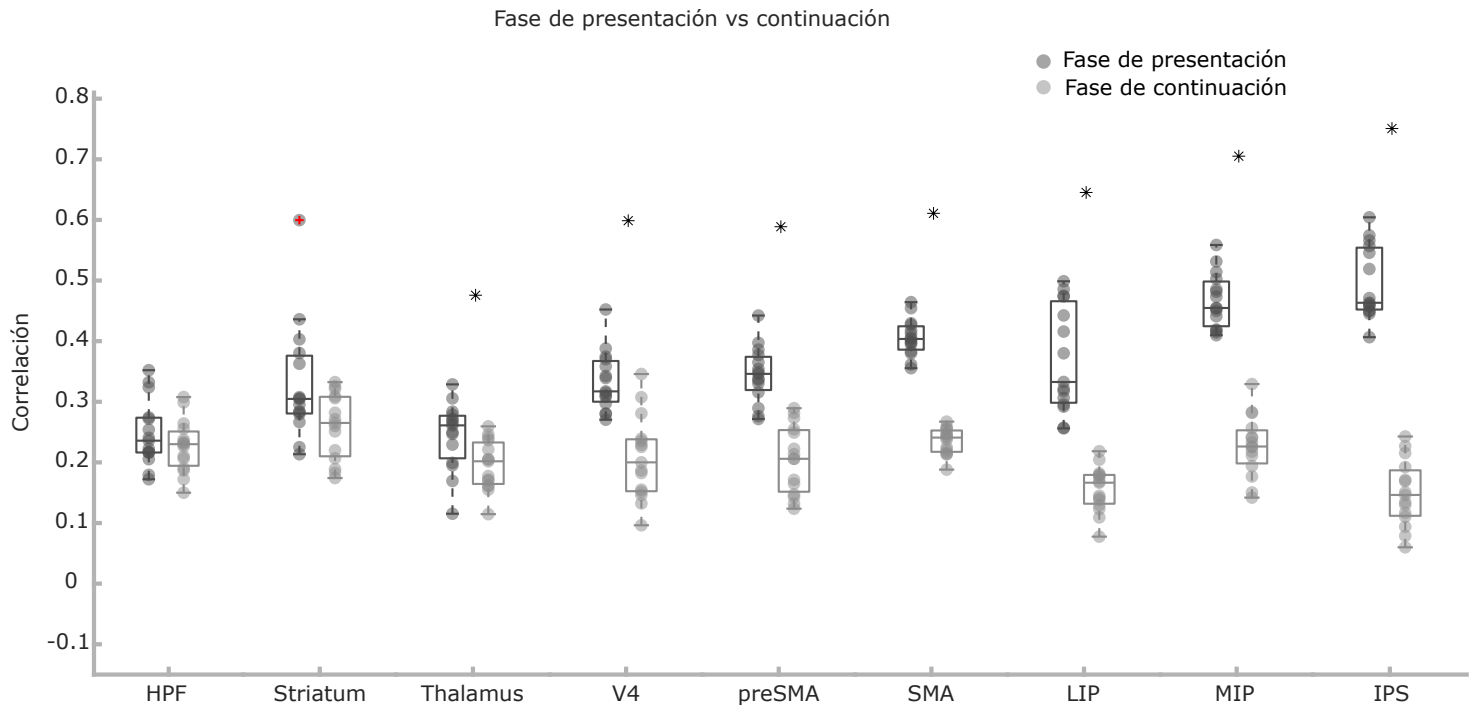
A diferencia de la fase de *presentación*, los coeficientes de la fase de *continuación* para cada una de las áreas parecen mantenerse entre 0.1 y 0.4, es decir, pareciera que las secuencias de activación se mantienen en menor medida a través de todas las condiciones presentadas cuando el estímulo no es visible y se debe de mantener el ritmo de manera interna.

Para obtener una mejor visualización de éstos, se contrastaron las fases de la tarea para cada una de las áreas. En la figura 21 en gris oscuro se muestran los coeficientes de correlación para la fase de *presentación* y en gris claro para la fase de *continuación* para cada una de las áreas.

Al contrastar los resultados anteriores podemos observar que, para tálamo, V4, área motora presuplementaria, área motora suplementaria, área lateral intraparietal, área medial



## Resultados



**Figura 21: Correlación de secuencias de activación de la fase de Continuación vs fase de Presentación** Los valores de correlación de mantenimiento de las secuencias de activación para la fase de *presentación* en color gris oscuro y para la fase de *continuación* en color gris claro para cada una de las áreas. Los boxplot representan los percentiles 25%, 75% y la mediana de los valores de correlación. Los asteriscos representan  $p < 0.001$ . Las etiquetas para cada área son: Hipocampo (HPF), Tálamo (Thalamus), V4 (Corteza Visual 4), Striatum (Estriado), preSMA (Área Motora Presuplementaaria), LIP (Área Lateral Intraparietal), SMA (Área Motora Suplementaria), MIP (Área Medial Intraparietal), IPS (Surco Intraparietal)

intraparietal y el surco intraparietal los coeficientes de correlación entre ambas fases son diferentes (prueba t pareada,  $t=9.01$ ,  $t=20.48$ ,  $t=29.42$ ,  $t=53.49$ ,  $t=15.15$ ,  $t=72.79$ ,  $t=77.65$ ,  $p < 0.001$ ), en comparación con los de hipocampo y estriado ( $t=4.83$ ,  $t=4.56$ ,  $p > 0.001$ ).

Si bien, al parecer entre mayor se mantengan las secuencias de activación de las neuronas durante la fase de *presentación* entre las condiciones presentadas, durante la fase de *continuación*, se mantienen estables a través de todas las áreas.

A simple vista en hipocampo se puede observar que independientemente de si el estímulo es visible o hay que mantener el ritmo (invisible) las secuencias de disparo son específicas para cada condición presentada, por lo que se podría pensar que es una característica de hipocampo, al contrastarla con el resto de las áreas.

### 8. Conclusión

Abordar el procesamiento de la información rítmica con la tarea del *Metronomo visual* acompañado de la actividad de las neuronas de hipocampo permite ahondar en cómo es que se lleva a cabo el procesamiento de la información temporal en nuestro cerebro desde una perspectiva que aún no ha sido estudiada.

Las neuronas de hipocampo cubren los intervalos presentados para cada una de las fases de la tarea del *Metronomo visual*, al ordenarlas en función del pico máximo de activación, sin embargo, las secuencias de activación observadas para cada condición de la tarea son únicas, es decir, son características para cada tipo de ensayo, y no existe diferencia entre la fase de presentación o continuación en cuanto al mantenimiento de estas secuencias de activación.

En contraste, el resto de las áreas, las cuales poseen coeficientes de correlación más altos, indican que las secuencias de activación se mantienen a través de las condiciones presentadas. Aunado a esto, este mantenimiento de secuencias se ve en mayor medida en la fase de *presentación*, lo cual podría deberse a las características de la tasa de disparo de neuronas durante la tarea. A diferencia de la fase de *continuación* que al parecer las secuencias de activación no se mantienen a lo largo de las distintas condiciones de la tarea.

Sin embargo, ¿los patrones de activación encontrados pueden predecir el tiempo transcurrido de los ensayos? ¿los patrones de actividad que se mantienen en las otras áreas representan escalaridad?

Los hallazgos reportados en este trabajo nos acercan cada vez más a encontrar respuestas para entender cómo es que se lleva a cabo el procesamiento de la información temporal en nuestro cerebro. No obstante, aún sigue sin responderse la pregunta fundamental que nos motivó a ésta búsqueda de información: ¿Qué participación tiene el

## Conclusión

---

hipocampo en el procesamiento de la información?

## 9. Bibliografía

Buonomano DV & Maass W (2009). State-dependent computations: spatiotemporal processing in cortical networks. *Nature Reviews, Neuroscience*. 17:113-125.

Cadena-Valencia J, García-Garibay Otto, Merchant H, Jazayeri M, de Lafuente V. (2018) Entrainment and maintenance of an internal metronome in supplementary motor area. *eLife* 7:e38983

Derdikman D, Whitlock JR, Tsao A, Fyhn M, Hafting T, Moser M-B, Moser EI (2009). Fragmentation of grid cell maps in a multicompartiment environment. *Nature Neuroscience* 12:1325–1332.

Egger SW, Remington ED, Chang CJ, Jazayeri M (2019). Internal models of sensorimotor integration regulate cortical dynamics. *Nature Neuroscience*. 22:1871-1882.

Eichenbaum H (2014). Time cells in the hippocampus: a new dimension for mapping memories. *Nature Reviews*. 13:732-744.

Epsztein J, Lee AK, Chorev E, Brecht M (2010) Impact of spikelets on hippocampal CA1 pyramidal cell activity during spatial exploration. *Science* 327:474–477.

Gámez J, Mendoza G, Prado L, Betancourt A, Merchant H. (2018) The amplitude in periodic neural state trajectories underlies the tempo of rhythmic tapping. *Plos Biol* 17(4):e3000054

García-Garibay O, Cadena-Valencia J, Merchant H, de Lafuente V (2016). Monkeys Share the Human Ability to Internally Maintain a Temporal Rhythm. *Frontiers in Psychology*, 7(1971).

Georges-François P, Rolls ET, Robertson RG (1999) Spatial view cells in the primate hippocampus: allocentric view not head direction or eye position or place. *Cereb Cortex* 9:197–212.

Harvey CD, Collman F, Dombeck DA, Tank DW (2009) Intracellular dynamics of hippocampal place cells during virtual navigation. *Nature* 461:941–946.

Jacobs NS, Allen, TA, Nguyen N and Fortin NJ. (2013). Critical Role of the Hippocampus in Memory for Elapsed Time. *Brief Communications The Journal of Neuroscience* 33(34):13888-13893.

## Bibliografía

---

Killian NJ, Jutras MJ, Buffalo EA (2012) A map of visual space in the primate entorhinal cortex. *Nature* 491:761–764.

Kraus BJ, Robinson II J, White JA, Eichenbaum H, Hasselmo ME. (2013). Hippocampal “Time Cells”: Time versus Path Integration. *Neuron* 78:1090-1101

Kunimatsu J, Suzuki TW, Ohmae S, Tanaka M. (2018) Different contributions of preparatory activity in the basal ganglia and cerebellum for self-timing. *eLife* 7:e35676

Salz DM, Tiganj Z, Khasnabish S, Kohley A, Sheehan D, Howard MW, and Eichenbaum H (2016). Time cells in hippocampal area CA3. *The Journal of Neuroscience*. 36, 7476–7484.

Kunimatsu J, Suzuki TW, Ohmae S, Tanaka M (2018). Different contributions of preparatory activity in the basal ganglia and cerebellum for self-timing. *eLife* 7:e35676

Matel MS, Meck WH (2004) Cortico-striatal circuits and interval timing: coincidence detection of oscillatory processes. *Cogn Brain Res*. 21(2):139–70.

Mello GBM, Soares S, Paton JJ (2015). A Scalable Population Code for Time in the Striatum. *Current Biology* 25:1113-1122

Merchant H & de Lafuente V (2014). *Neurobiology of Interval Timing*. New York: Springer.

Merchant H, Zarco W, Perez O, Prado L, Bartolo R. (2011). Measuring time with multiple neural chronometers during a synchronization-continuation task. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108:19784–9.

O’Keefe J (2007) Hippocampal neurophysiology in the behaving animal. In: Andersen P, Morris RG, Amaral DG, Bliss TV, O’Keefe J (eds) *The hippocampus book*. Oxford University Press, New York, NY, pp 475–548.

Pastalkova E, Itskov V, Amarasingham A, Buzsáki G (2008). Internally Generated Cell Assembly Sequences in the Rat Hippocampus

Savelli F, Yoganarasimha D, Knierim JJ (2008) Influence of boundary removal on the spatial representations of the medial entorhinal cortex. *Hippocampus* 18:1270–1282.

Saleem K, Logothetis Nikos (2012) *A Combined MRI and Histology Atlas of the Rhesus Monkey Brain in Stereotaxic Coordinates* 2nd Edition.

Salz DM, Tiganj Z, Khasnabish S, Kohley A, Sheehan D, Howard MW and Eichen-

## Bibliografía

---

baum H (2016) Time Cells in Hippocampal Area CA3. *The Journal of Neuroscience* 36(28):7476-7484.

Solstad T, Boccara CN, Kropff E, Moser M-B, Moser EI (2008) Representation of geometric borders in the entorhinal cortex. *Science* 322:1865–1868.

Taube JS (2007) The head direction signal: origins and sensory-motor integration. *Annu Rev Neurosci* 30:181–207.

Tiganj Z, Jung MW, Kim J, and Howard MW (2017) Sequential firing codes for time in rodent medial prefrontal cortex. *Cereb. Cortex* 27, 5663–5671.