



ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD NEURONAL EN  
EL PUTAMEN DURANTE LA EJECUCIÓN DE  
UNA TAREA MULTISENSORIAL

Ana María Fernández Vicente

Departamento de Fisiología

Facultade de Medicina





Francisco González García, catedrático de Fisiología de la Universidad de Santiago de Compostela, y María José Álvarez Bermúdez, doctora en Ciencias Biológicas por la Universidad de Santiago de Compostela

#### HACEN CONSTAR

Que la presente tesis titulada ‘Estudio de la actividad neuronal en el putamen durante la ejecución de una tarea multisensorial’ elaborada por la licenciada en Psicología Ana María Fernández Vicente, ha sido realizada bajo su dirección en el departamento de Fisiología de esta Universidad, y que, hallándose concluida, autoriza su presentación a fin de que pueda ser juzgada por la comisión correspondiente.

Santiago de Compostela, a 15 de febrero de 2011.

Fdo. Francisco González García

Fdo. María José Álvarez Bermúdez



## AGRADECIMIENTOS

Gracias a todas las personas que me han ofrecido su ayuda y apoyo

Diseño de portada: Martín Cañedo



# ÍNDICE

## LISTA DE ABREVIATURAS

SUMMARY .....	11
INTRODUCCIÓN.....	19
1. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA Y FISIOLÓGICA DE LOS GANGLIOS	
BASALES .....	20
1.1 Núcleos de entrada .....	25
1.1.1 Estriado (putamen y caudado) .....	25
1.1.2 Núcleo subtalámico (NST) .....	27
1.2 Núcleos intermedios .....	28
1.2.1 Globo pálido externo (GPe) .....	28
1.2.2 Sustancia negra compacta (SNc) .....	29
1.3 Núcleos de salida .....	30
1.4 Las tres vías de los ganglios basales .....	31
1.4.1 La vía directa .....	32
1.4.2 La vía indirecta .....	33
1.4.3 La vía hiperdirecta .....	34
2. EL PUTAMEN .....	35
2.1 Descripción general del putamen .....	35
2.2 Funciones del putamen .....	37
2.2.1 Procesamiento de estímulos sensoriales .....	38
2.2.2 Aprendizaje .....	39
2.2.3 Movimiento .....	41
2.2.4 Somatotopía .....	43
2.2.5 Cognición .....	45
OBJETIVO .....	49
MATERIAL Y MÉTODOS .....	53
1. PREPARACIÓN Y ENTRENAMIENTO DEL ANIMAL .....	53
2. TAREA Y SISTEMA DE ESTIMULACIÓN .....	57
3. REGISTRO DE LOS DATOS .....	59

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS .....	61
4.1 Datos de comportamiento .....	61
4.2 Datos neuronales .....	61
5. LOCALIZACIÓN ANATÓMICA DE LOS REGISTROS .....	66
RESULTADOS .....	69
1. DATOS PSICOFÍSICOS .....	69
2. ACTIVIDAD NEURONAL .....	72
2.1 Actividad neuronal relacionada con el componente visual del estímulo .....	75
2.2 Actividad neuronal relacionada con la acción .....	77
2.3 Actividad relacionada con la recompensa .....	85
2.4 Actividad neuronal relacionada con más de un evento de la tarea .....	88
2.5 Actividad neuronal relacionada con la acción y tiempo de reacción .....	89
DISCUSIÓN .....	93
1. RESULTADOS PSICOFÍSICOS .....	93
2. ACTIVIDAD NEURONAL .....	95
2.1 Neuronas visuales .....	96
2.2 Neuronas relacionadas con la acción .....	98
2.3 Neuronas de recompensa .....	102
2.4 Neuronas con respuestas a varios eventos .....	103
2.5 Neuronas fásicas y neuronas tónicas en el putamen .....	104
2.6 Otros aspectos estudiados .....	105
CONCLUSIONES .....	109
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	115

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA: test de análisis de la varianza

CMP: corteza motora primaria

CMS: corteza motora suplementaria

DA: dopamina

D1 y D2: receptores dopaminérgicos D1 y D2

GABA: neurotransmisor ácido gamma-aminobutírico

GB: ganglios basales

glu: glutamato

GPe: globo pálido externo

GPI: globo pálido interno

IM: índice de magnitud

IU: unidades internacionales de medicamento

kg: kilogramos

KHz: kilohercios

M: concentración molar

mg: miligramos

ml: mililitros

mm: milímetros

ms: milisegundos

N: tamaño de la población

NPP: núcleo pedúnculo pontino

NST: núcleo subtalámico

P: probabilidad

PANs: neuronas con actividad fásica

PE: variabilidad entre grupos

pH: potencial de Hidrógeno

PI: variabilidad intra-grupos

SN: sustancia negra

SNC: sustancia negra compacta

SNr: sustancia negra reticulada

TANs: neuronas con actividad tónica



## **SUMMARY**

A common response of the nervous system to a stimulus is a motor response to obtain a reward, such as moving an arm to reach a piece of food. In this case, the motor nuclei must process the information about the stimuli (food) in order to choose the most appropriate motor action to achieve the expected goal. For this, the motor nuclei need to elaborate the motor plans in such a way that the muscles can perform the appropriate actions.

Basal ganglia are a group of nuclei that have a crucial role in motor activity. Putamen belongs to the basal ganglia group, and integrates different types of information in order to execute a motor action. Putamen seems to be also involved in sensory processing. However, its specific role in both motor and sensory processes is still unclear.

For the purpose of better categorizing putamen neurons, we studied their activity during the performance of multisensory operant tasks. To do that, we trained two rhesus monkeys to press a lever during the presence of complex stimuli such as short video-clips showing a human face nodding up and down while pronouncing the word 'yes' or shaking left to right while pronouncing the word 'no'. During 'yes' trials (motor-related trials), the animals had to press the lever in order to get a reward (a drop of juice). For 'no' trials (non-motor-related trials), no motor action was required and no reward was given. Trials involved either both image and sound, only image, or only

sound. We named each of these task conditions Video and Sound, Only Video, and Only Sound respectively.

We recorded 191 neurons from the putamen nucleus in two animals while performing the operant task. Of these, 133 neurons (69.6%) modified their activity at some point during the task performance (ANOVA,  $P < 0.05$ ). Of these task-related neurons, 17 (13%) increased their activity just after the video onset and therefore were classified as *visual neurons*. More than half of the task-related neurons, 78 (59%), modified their activity around the lever pressing phase and were classified as *action-related neurons*. Lastly, 38 (29%) neurons showed changes in activity during the reward delivery period and were classified as *reward-related neurons*.

*Visual neurons* increased their activity just after video onset in both ‘yes’ and ‘no’ trials. This response was not found in the Only Sound condition despite having the same stimulus-reward association, therefore excluding a possible role for these neurons in the preparation of the forthcoming behavioural action. Our data suggest that some neurons in the putamen may be involved in the processing of pure visual information. Visual information may reach to this nucleus through connections from the thalamus and/or from the cerebral cortex (Galvan et al., 2006; Middleton & Strick, 1996; Seger, 2007).

Even though we described primary sensory neurons activated by visual stimuli, we did not find neurons activated only by sound. However, auditory activity was reported by Hikosaka et al. (1989a) in primate caudate, as well as by Nagy et al. (2005) in substantia nigra and caudate nucleus in cats. Moreover, these authors described multisensory activity in basal ganglia. The reason why we failed to find such activity may be because we did not use the appropriate auditory stimulus or because we did not record neurons from the auditory area of the putamen.

*Action-related* neurons showed a change of activity around the lever pressing phase. We studied the neuronal activity in those trials in which animals pressed the lever when no action was required ('no' trials, 'wrong pressing' errors) and in those trials in which animals did not press the lever when it was required ('yes' trials, 'missing' errors). We found the same profile activation in 'wrong pressing' errors as in hits in which animals pressed the lever when it was required ('yes' trials). No activation was observed in the missed trials in which animals did not press the lever when it was required (during 'yes' trials). These results indicate that these *action-related neurons* are involved in the movement execution. *Action-related* neurons were classified in three groups according to their temporal profile of response: *pre-action neurons*, *peri-action neurons*, and *action-suppression neurons*.

Out of the 78 *action-related neurons*, 15 (19%) were classified as *pre-action neurons* because their activity increased just before the lever pressing (ANOVA,  $P < 0.05$ ), suggesting an involvement of these neurons in some of the processes required for the initiation of a motor action. In this particular context, these *pre-action neurons* could be related to the preparation of the forthcoming movement (lever pressing) to obtain the reward. Some studies have shown changes in firing rate in basal ganglia before the motor act which was considered as preparatory activity (Romo et al., 1992; Deffains et al., 2010).

A second population of neurons ( $N=52$ , 67%) was classified as *peri-action neurons* because their activity increased around lever pressing. The activity of these neurons suggests their involvement in the execution of movement. This finding agrees with the concept of the putamen as a motor structure (Ueda & Kimura, 2003; Filatova et al., 2005).

A third population of neurons was classified as *action-suppression neurons* ( $n=11$ , 14%) because they showed an increase in activity around the lever pressing phase in the 'yes' trials and a decrease in activity in the same time window in the 'no'

trials (ANOVA,  $P < 0.05$ ). We did not observe any hand or arm movements during the presentation of the 'no' trials. In our opinion, the fact that the same neuron showed different responses in 'yes' and 'no' trials could be related to the automatic component of the movement. Several studies have shown that as performance improves in an operant task, movements become automatic and consequently the pattern of neuronal activity changes (Barnes et al., 2005; Tang et al., 2007). Moreover, many studies have proposed that connections between basal ganglia and prefrontal cortex would allow automatic motor habits acquisition (Middleton & Strick, 2002; Draganski et al., 2008). Indeed, the changes in neural activity we observed during non-motor-related trials always occurred in the phase where the lever would have been pressed if the trial had been motor-related. The decrease in activity we found in these neurons during the 'no' trials could be related to the withholding of movement. Some brain structures may send commands to the putamen to cancel or modulate neural motor activity. The inferior frontal cortex has been linked to the inhibition of an already initiated response (Aron et al., 2004). Therefore, this cortical area may have influenced the basal ganglia to exert an executive control by inhibiting the motor plans. Furthermore, other authors have described striatal neurons that are activated during an unrewarded withholding of movement, suggesting their role in movement suppression (Apicella et al., 1992; Schultz & Romo, 1992; Romero et al., 2008). Finally, some authors (Lee & Assad, 2003; Lee et al., 2006) have proposed that changes in neural activity in the absence of movement can provide a signal indicating that movement has been successfully suppressed, and these changes are not directly related to movement execution. The role of the putamen in movement suppression could account for some motor disorders, such as Parkinson's disease which is characterized by a decrease in voluntary movements and an increase in involuntary movements.

*Reward-related neurons* modified their activity just after reward delivery (N=38, 29%, ANOVA,  $P < 0.05$ ). Most of them (87%) showed increased firing rates, whereas 5 out of 38 neurons (13%) showed decreased firing rates. Several studies have shown that putamen activity can be modulated not only by reward onset (Apicella et al.,

1997; Ravel et al., 2003) but also by stimuli that precede reward (Aosaki et al., 1994; Kimura et al., 1984). To test the effect of reward alone on these neurons, we delivered drops of juice with no previous stimulus presentation. We found that this control test elicited the same activation than the three task conditions (ANOVA,  $P < 0.05$ ; Video and Sound, Only Video, and Only Sound). That confirms that this reward-related activity was elicited neither by the motor action nor by the visual or auditory stimuli that preceded the reward.

We report that putamen neurons process visual, motor, and reward information. Our results suggests that these neurons may be involved in the processing of behaviourally significant events, and that such information would become available for subsequent use in the planning and control of motor behaviour.



# INTRODUCCIÓN

---



El entorno que nos rodea contiene un gran número de estímulos, pero sólo una parte de los estímulos pasa el filtro atencional. Los estímulos considerados importantes para nuestra supervivencia son procesados por nuestro cerebro y determinarán nuestra conducta. Tras su procesamiento, escogemos la reacción más adecuada y ejecutamos las acciones necesarias para que ésta se lleve a cabo.

Una de las reacciones más comunes ante la presentación de un estímulo relevante es una respuesta motora. Para realizar esta compleja acción, el cerebro primero recibe y procesa la información sensorial, después elige la respuesta motora más adecuada y, por último, envía la orden motora a los músculos de los órganos efectores para realizar el movimiento.

Los ganglios basales (GB) intervienen en la coordinación motora. Dentro de este conjunto de núcleos cerebrales, el putamen ha sido relacionado tradicionalmente con el control del movimiento (Georgopoulos y cols., 1983; Kimura y cols., 1984). Además muchos estudios sugieren un papel del putamen en el procesamiento de estímulos sensoriales (Chudler y cols., 1995; Graziano y Gross, 1993; Kimura, 1992). A pesar del gran número de estudios centrados en el putamen todavía no se conocen sus funciones específicas ni los mecanismos neuronales a través de los cuales interviene en la coordinación sensoriomotora.

El aprendizaje de la relación entre un estímulo y sus efectos es conocido como aprendizaje asociativo. Hay dos tipos de aprendizaje asociativo, el aprendizaje por condicionamiento clásico o Pavloviano y el aprendizaje por condicionamiento operante

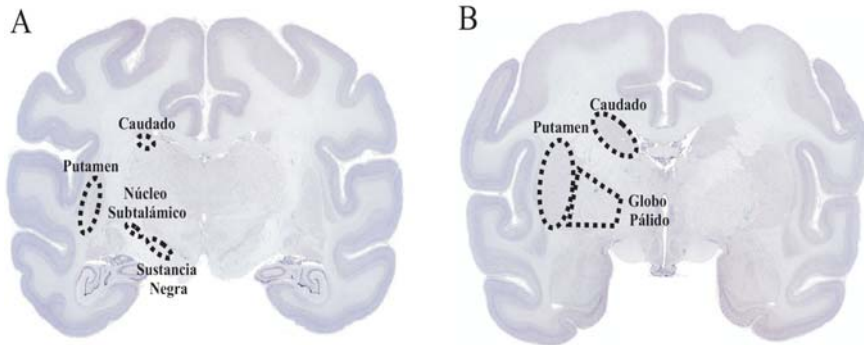
o instrumental. En el primero, un estímulo que provoca una respuesta en el organismo (estímulo incondicionado) se asocia con otro estímulo neutro que inicialmente no provoca ninguna respuesta (estímulo condicionado). Con el tiempo, el estímulo condicionado provoca la misma respuesta que el estímulo incondicionado. Un ejemplo de este tipo de aprendizaje es la salivación provocada por un sonido (estímulo condicionado) tras ser presentado contingentemente con un alimento (estímulo incondicionado). El aprendizaje por condicionamiento operante implica la realización de una acción como respuesta a un estímulo. Cuando la acción genera un efecto agradable, hablamos de reforzamiento positivo. Cuando la acción evita un efecto desagradable, estamos ante un reforzamiento negativo.

En el presente estudio utilizamos una tarea operante con reforzamiento positivo en la que el animal, tras la presentación de un estímulo, debe ejecutar una respuesta motora (el pulsado de una palanca) para obtener una recompensa (zumo de manzana). Ésta es una tarea compleja que requiere el procesamiento de un estímulo y la ejecución de un acto motor adecuado. Con ella hemos podido analizar la actividad de las neuronas del putamen en relación con la presentación de diferentes estímulos sensoriales, la respuesta motora y la obtención de recompensa.

## **1. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA Y FISIOLÓGICA DE LOS GANGLIOS BASALES**

Los núcleos que forman los GB son el putamen, el caudado, el globo pálido, la sustancia negra y el núcleo subtalámico. Reciben información de gran parte de la corteza cerebral y del tálamo. A su vez, reenvían información a la corteza a través del tálamo y del tronco encefálico (DeLong, 2000; Galvan y cols., 2006; Utter y Basso, 2008). Trabajos recientes han encontrado proyecciones entre los GB y el cerebelo. Hoshi y cols. (2005) observaron que el núcleo dentado del cerebelo (núcleo de salida) está conectado con el estriado (núcleo de entrada). Bostan y cols. (2010) hallaron

conexiones entre el núcleo subtalámico (NST) y la corteza del cerebelo. En la siguiente figura se muestran los núcleos que forman los GB en dos cortes coronales de mono rhesus (macaca mulatta) (Figura 1).



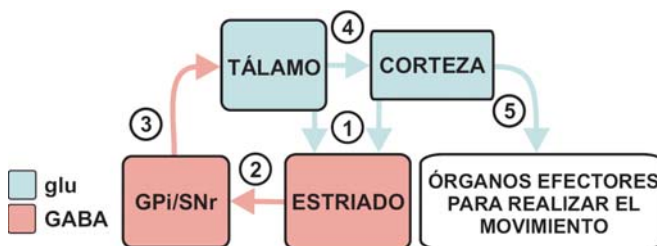
**Figura 1:** Cortes coronales de mono rhesus (macaca mulatta) mostrando el putamen, el caudado, el núcleo subtalámico, la sustancia negra, y el globo pálido. A. Corte coronal 10.65 mm anterior respecto al eje interaural. B. Corte coronal 8.40 mm anterior respecto al eje interaural (Paxinos y cols, 2000). Tomado de [www.brainmuseum.org](http://www.brainmuseum.org).

A nivel funcional, los GB se dividen en una parte dorsal y otra parte ventral. La parte dorsal está formada por el estriado dorsal (que incluye el putamen y el caudado dorsal), el globo pálido dorsal, el NST, y la sustancia negra (que incluye la sustancia negra compacta y la sustancia negra reticulada). Esta parte dorsal de los GB está relacionada con funciones motoras y de asociación. La parte ventral de los GB está formada por el estriado ventral, el globo pálido ventral, y el área tegmental ventral, que es una continuación de la sustancia negra compacta. El área tegmental ventral pertenece al sistema límbico, conjunto de núcleos relacionados con las emociones (Bolam y cols., 2009, Galvan y cols., 2006).

La mayor parte de las neuronas de los GB son GABAérgicas, excepto las neuronas glutamatérgicas del NST, las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra compacta (SNc) y una población de interneuronas del estriado que utilizan acetilcolina

como neurotransmisor (Bolam y cols., 2000). En cuanto a las conexiones de entrada, los GB reciben en su mayoría neuronas glutamatérgicas que provienen de la corteza y el tálamo. Las proyecciones talámicas y las corticales, formadas por neuronas piramidales, establecen sinapsis con las neuronas medias espinales gabaérgicas del estriado ipsilateral y, en menor medida, del estriado contralateral. Algunas conexiones también llegan al NST.

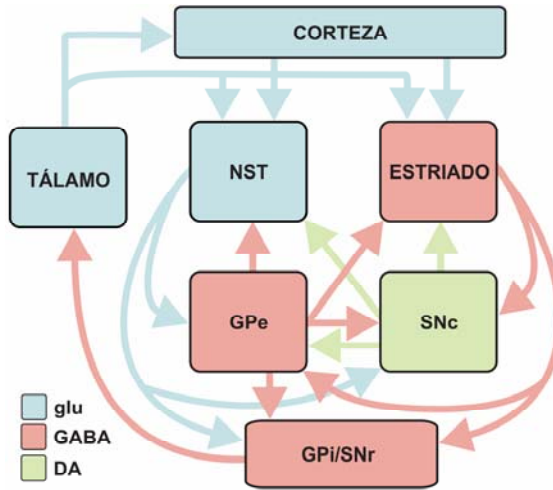
De manera muy esquematizada, la información motora se transmite por los GB tal como se muestra en la Figura 2. La información que proviene de la corteza y del tálamo, es procesada por el estriado y después es enviada a los núcleos de salida de los GB, el globo pálido interno (GPi) y la sustancia negra reticulada (SNr). La información llega a los núcleos de salida a través de dos vías: la vía directa y la vía indirecta, que serán descritas más adelante. Una vez procesada la información, va de nuevo al tálamo, que a su vez conecta con la corteza y con núcleos del tronco encefálico relacionados con el movimiento, como los colículos superiores, el núcleo pedúnculo pontino, la habénula lateral, y la formación reticular (Bolam y cols., 2009; DeLong, 2000). Finalmente, la corteza envía las órdenes motoras a los órganos efectores para realizar el movimiento.



**Figura 2:** Dibujo esquemático mostrando el procesamiento de la información en los GB. En color azul se representan los núcleos que utilizan glutamato (glu) como neurotransmisor. En color rojo, los núcleos que utilizan ácido gamma-aminobutírico (GABA) como neurotransmisor. Las flechas indican el flujo de información y el neurotransmisor utilizado.

El tálamo conecta con la corteza a través de diferentes circuitos separados tanto anatómica como funcionalmente. El circuito esquetomotor envía proyecciones a la corteza motora primaria, premotora, y el área motora suplementaria. El circuito oculomotor se dirige a las cortezas prefrontal, dorsolateral y orbitofrontal lateral. Por último, el circuito límbico alcanza el área cingulada anterior y la corteza orbitofrontal interna. Diferentes áreas de la corteza, a su vez, envían conexiones a determinados núcleos de los GB. Las áreas de asociación de la corteza proyectan al caudado y a la parte anterior del putamen, las áreas sensitivomotoras proyectan al putamen central y caudal, y las áreas límbicas proyectan al estriado ventral y al tubérculo olfatorio (Brown y cols., 1997; DeLong, 2000).

Dentro de los GB, se diferencian los núcleos de entrada (núcleo del estriado y NST), los núcleos intermedios (globo pálido externo o GPe y SNc), y los núcleos de salida (GPi y SNr). En la Figura 3 se muestran esquemáticamente las principales conexiones entre los diferentes núcleos pertenecientes a los GB, así como las conexiones entre los GB con el tálamo y la corteza.



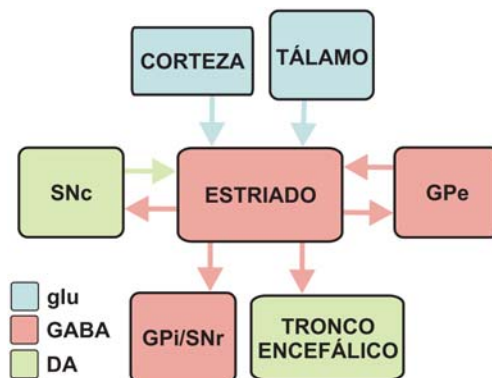
**Figura 3:** Dibujo esquemático mostrando las conexiones de los núcleos que forman los GB. En color azul se representan los núcleos que utilizan glutamato como neurotransmisor (glu). En rojo, los núcleos que utilizan ácido gamma-aminobutírico (GABA) como neurotransmisor. En verde, el núcleo que utiliza dopamina (DA) como neurotransmisor. Las flechas indican el flujo de información y el neurotransmisor utilizado.

## 1.1. Núcleos de entrada

### 1.1.1. Estriado (putamen y caudado)

El putamen y el caudado, separados por la cápsula interna, forman el núcleo del estriado. La mayor parte de las neuronas del estriado, entre un 90 y un 95%, utilizan GABA como neurotransmisor principal y establecen sinapsis simétricas (Gray tipo II), en las que las membranas presináptica y postsináptica presentan un grosor semejante.

El estriado es el núcleo de los GB que más aferencias recibe de otras estructuras (Figura 4). Recibe conexiones excitatorias glutamatérgicas del tálamo y la corteza, que forman sinapsis asimétricas (Gray tipo I), en las que la membrana presináptica es de menor grosor que la postsináptica. A través de estas conexiones llega información sensorial de tipo auditivo, visual y somatosensorial (Marchand, 2010; Utter y Basso, 2008).



**Figura 4:** Dibujo esquemático mostrando las principales conexiones del estriado. En color azul se representan los núcleos que utilizan glutamato (glu) como neurotransmisor. En rojo, los núcleos que utilizan ácido gamma-aminobutírico (GABA) como neurotransmisor. En verde, los núcleos que utilizan dopamina (DA) como neurotransmisor. Las flechas indican el flujo de información y el neurotransmisor utilizado.

Asimismo, las neuronas del estriado reciben proyecciones dopaminérgicas de la SNc (Bolam y cols., 2000) y GABAérgicas del GPe.

Muchas de las proyecciones que recibe el estriado están organizadas topográficamente y esta ordenación hace que el estriado se divida en sensoriomotor, asociativo y límbico (Nakano y cols., 2000; Parent y Hazrati, 1995). El estriado sensoriomotor se corresponde con el área dorsolateral de la región postcomisural del putamen y con el área dorsolateral de la cabeza del caudado. Recibe proyecciones de la corteza primaria motora, premotora, suplementaria, cingulada motora y de la corteza somatosensorial. El estriado asociativo está formado por el putamen rostral a la comisura anterior, por la mayor parte de la cabeza del caudado y el área medial del cuerpo y la cola. Recibe proyecciones de varias áreas de asociación de la corteza, como el córtex prefrontal, temporal, parietal posterior y preoccipital, así como del área ocular frontal y ocular suplementaria. Por último, el estriado límbico está formado por el núcleo accumbens, las áreas ventrales del putamen y el caudado, y la parte más profunda del tubérculo olfatorio. Recibe conexiones del hipocampo, amígdala y otros núcleos del sistema límbico.

El estriado, a su vez, envía proyecciones inhibitorias a través de neuronas medias espinales GABAérgicas al GPe, a la SNc, al GPi y a la SNr, así como al núcleo dopaminérgico del mesencéfalo (Marchand, 2010) (Figura 4). Existen dos poblaciones de neuronas GABAérgicas en función de las regiones que inervan y su neuroquímica. Una población de neuronas da lugar a la vía directa que proyecta a los núcleos de salida de los GB (GPi y SNr). La otra población de neuronas da lugar a la vía indirecta que proyecta al GPe. Ambas poblaciones de neuronas envían neuronas colaterales que inervan otras neuronas medias espinales GABAérgicas (tanto la vía directa como la indirecta serán abordadas con más detalle en el apartado 1.4 titulado ‘Las tres vías de los ganglios basales’).

Los dos receptores dopaminérgicos del estriado (D1 y D2) dan lugar a dos tipos de actividades diferentes: la unión de la dopamina (DA) a un receptor

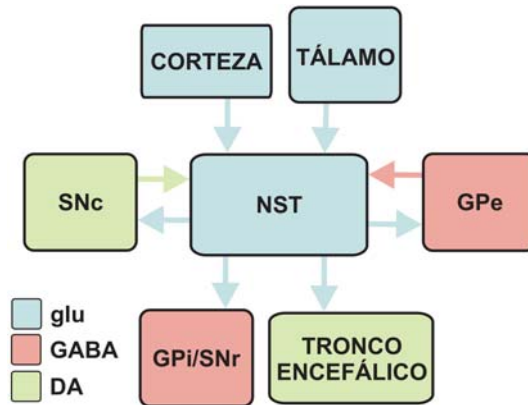
dopaminérgico D1 provoca la despolarización de la neurona mientras que su unión a un receptor dopaminérgico D2 provoca su hiperpolarización. Por esto se ha sugerido que las neuronas del estriado con receptores D1 facilitan la transmisión de información y las neuronas con receptores D2 la reducen (Marchand, 2010, Utter y Basso, 2008).

### **1.1.2. Núcleo subtalámico (NST)**

El NST es un núcleo de pequeño tamaño situado por debajo del tálamo. Junto con el estriado es uno de los núcleos de entrada de los GB, es decir, recibe conexiones de otras estructuras del cerebro. Utiliza glutamato como neurotransmisor por lo que, a diferencia de la mayor parte de los núcleos de los GB, envía proyecciones excitatorias a aquellas regiones que inerva.

El NST recibe proyecciones glutamatérgicas de la corteza y del tálamo, GABAérgicas del GPe, dopaminérgicas de la SNc, serotoninérgicas del núcleo del rafe dorsal, colinérgicas del núcleo pedúnculo pontino (NPP) del tronco cerebral, y dopaminérgicas del colículo superior (Coizet y cols., 2009) (Figura 5). La información que el NST recibe de la corteza proviene de la zona ipsilateral de la corteza motora, cíngulada anterior, insular dorsal y regiones del córtex frontal anterior.

El NST, a su vez, envía conexiones glutamatérgicas que forman sinapsis asimétricas con los núcleos de salida de los GB (GPi y SNr), con el GPe, la SNc y el NPP (Figura 5). Este núcleo puede abortar de forma repentina un movimiento a través de la activación de las neuronas inhibitorias del GPi, dando lugar a una inhibición de los núcleos motores del tronco encefálico que inervan. El resultado final es una inhibición del movimiento (Aron y Poldrack, 2006). Este circuito neuronal es conocido como vía hiperdirecta y se explicará en detalle en el apartado 1.4.3 titulado ‘La vía hiperdirecta’.

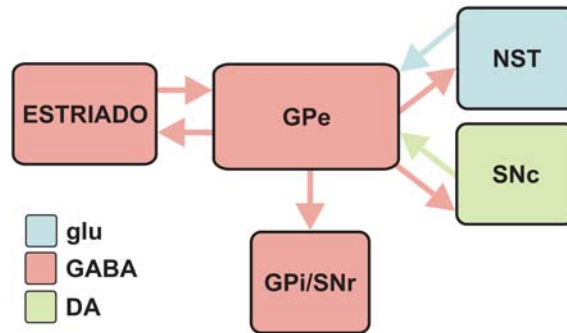


*Figura 5: Dibujo esquemático mostrando las principales conexiones del NST. En color azul se representan los núcleos que utilizan glutamato (glu) como neurotransmisor. En rojo, los núcleos que utilizan ácido gamma-aminobutírico (GABA) como neurotransmisor. En verde, los núcleos que utilizan dopamina (DA) como neurotransmisor. Las flechas indican el flujo de información y el neurotransmisor utilizado.*

## 1.2 Núcleos intermedios

### 1.2.1. Globo pálido externo (GPe)

El GPe recibe proyecciones GABAérgicas del estriado, glutamatérgicas del NST, dopaminérgicas de la SNc, y neuronas colaterales de otras neuronas del globo pálido. En cuanto a la información de salida, envía proyecciones GABAérgicas al NST, a los núcleos de salida de los GB (con los que establece sinapsis simétricas), a la SNc y axones colaterales a las neuronas medias espinales del estriado. Una neurona del GPe puede inervar a cientos de neuronas medias espinales, por lo que este núcleo tiene un gran control sobre el estriado. En la Figura 6 se presentan sus conexiones de forma esquemática.

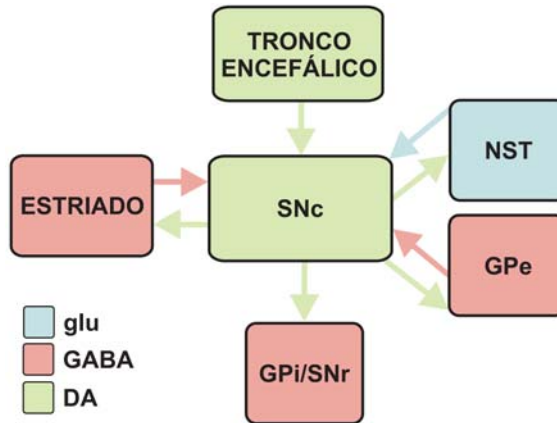


**Figura 6:** Dibujo esquemático mostrando las principales conexiones del GPe. En color azul se representan los núcleos que utilizan glutamato (glu) como neurotransmisor. En rojo, los núcleos que utilizan ácido gamma-aminobutírico (GABA) como neurotransmisor. En verde, el núcleo que utiliza dopamina (DA) como neurotransmisor. Las flechas indican el flujo de información y el neurotransmisor utilizado.

### 1.2.2. Sustancia negra compacta (SNc)

La mayor parte de las neuronas de la SNc son dopaminérgicas, aunque también se ha hallado una pequeña población de neuronas GABAérgicas. Las neuronas dopaminérgicas contienen neuromelanina, un pigmento oscuro derivado de la dopamina oxidada y polimerizada, responsable del color oscuro de esta estructura. La neuromelanina incrementa con la edad y se acumula en grandes gránulos lisosómicos de los cuerpos celulares de las neuronas dopaminérgicas.

La SNc recibe proyecciones GABAérgicas del estriado y el GPe, glutamatérgicas del NST, colinérgicas del NPP del tronco encefálico, y serotoninérgicas del núcleo del rafe dorsal. Estas aferencias se realizan a través de sinapsis simétricas. A su vez, la SNc envía proyecciones principalmente al estriado, formando el sistema dopaminérgico nigroestriatal. El GPe y el NST también reciben información de la SNc a través de neuronas colaterales (Figura 7).

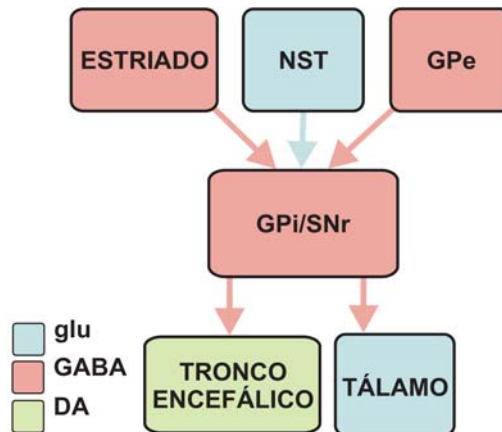


**Figura 7:** Dibujo esquemático mostrando las principales conexiones de la SNc. En color azul se representan los núcleos que utilizan glutamato (glu) como neurotransmisor. En rojo, los núcleos que utilizan ácido gamma-aminobutírico (GABA) como neurotransmisor. En verde, los núcleos que utilizan dopamina (DA) como neurotransmisor. Las flechas indican el flujo de información y el neurotransmisor utilizado.

### 1.3 Núcleos de salida

El GPi y la SNr son los núcleos de salida de los GB. Envían proyecciones GABAérgicas al tálamo y a estructuras subcorticales relacionadas con el movimiento, entre las que se encuentran los colículos superiores, la formación reticular parvocelular, la habénula lateral, y el NPP.

Ambos núcleos, reciben a su vez proyecciones inhibitorias de las neuronas medias espinales GABAérgicas del estriado (formando la vía directa), del GPe y proyecciones glutamatérgicas del NST (Figura 8).



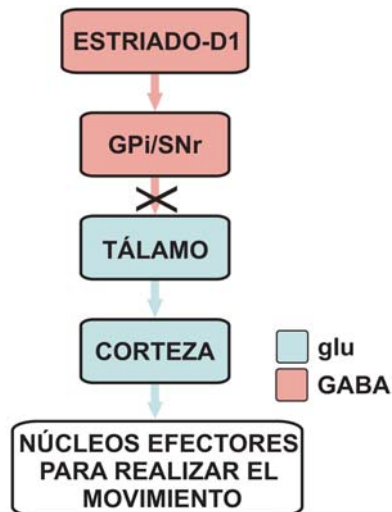
**Figura 8:** Dibujo esquemático mostrando las principales conexiones de los núcleos de salida de los GB (GPi/SNr). En color azul se representan los núcleos que utilizan glutamato (glu) como neurotransmisor. En rojo, los núcleos que utilizan ácido gamma-aminobutírico (GABA) como neurotransmisor. En verde, el núcleo que utiliza dopamina (DA) como neurotransmisor. Las flechas indican el flujo de información y el neurotransmisor utilizado.

#### 1.4 Las tres vías de los GB

Los núcleos de salida de los GB, el GPi y la SNr, inhiben de forma continua las regiones que inervan del tálamo y del tronco encefálico. Se cree que esta inhibición está controlada por dos vías: la vía directa y la vía indirecta. Ambas parten del estriado y terminan en los núcleos de salida de los GB. Además, recientemente se ha propuesto la existencia de una tercera vía, la vía hiperdirecta que bloquea la vía directa a través del NST. A continuación se explicará el funcionamiento de las tres vías de los GB.

### 1.4.1 La vía directa

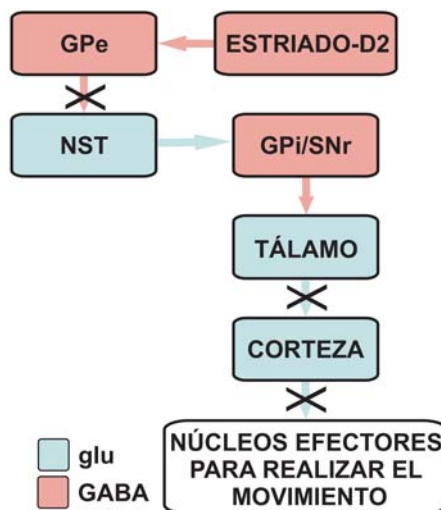
La vía directa se origina en las neuronas del estriado que tienen receptores D1. El estriado envía proyecciones inhibitorias a los núcleos de salida (GPi y SNr), por lo tanto, cuando éste se activa los núcleos de salida disminuyen su actividad. Ello provoca una disminución de la actividad inhibitoria de los núcleos de salida sobre los núcleos motores del tálamo y del tronco encefálico. Como consecuencia, los núcleos motores del tálamo y del tronco encefálico aumentan su actividad, lo que provoca la activación de los núcleos de la corteza que inervan. Por último la corteza envía las órdenes motoras necesarias para la realización del acto motor (Figura 9). Por lo tanto, la activación de la vía directa tiene como consecuencia la ejecución de un movimiento.



**Figura 9:** Esquema de la vía directa de los GB mostrando los núcleos implicados y sus correspondientes neurotransmisores. En color azul se representan los núcleos que utilizan glutamato (glu) como neurotransmisor. En rojo, los núcleos que utilizan ácido gamma-aminobutírico (GABA) como neurotransmisor. Las flechas rojas indican inhibición, las flechas azules indican activación, y las flechas tachadas indican que la actividad del núcleo ha sido inhibida. Las flechas indican el flujo de información y el neurotransmisor utilizado.

### 1.4.2 La vía indirecta

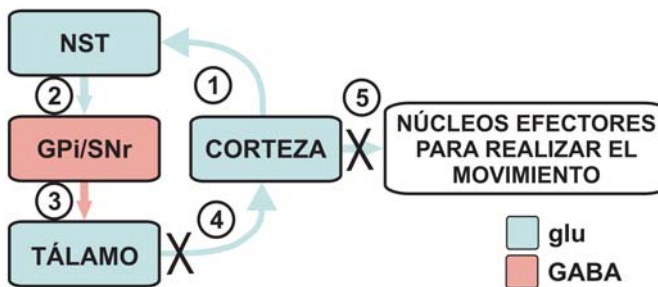
En la vía indirecta intervienen más núcleos de los GB que en la vía directa. Esta vía comienza con la activación de las neuronas del estriado con receptores D2, lo que produce una inhibición del GPe que inervan. Como consecuencia, el GPe deja de inhibir a las neuronas del NST provocando la activación de éste. A su vez, el NST envía sus proyecciones excitatorias al GPi y a la SNr, lo que provoca un aumento de la actividad inhibitoria de estos núcleos sobre el tálamo y el tronco encefálico. Como consecuencia, los núcleos de la corteza inervados por el tálamo y el tronco encefálico son inhibidos. Todo este proceso da lugar a una inhibición de los movimientos (Figura 10).



**Figura 10:** Esquema de la vía indirecta de los GB mostrando los núcleos implicados y sus correspondientes neurotransmisores. En color azul se representan los núcleos que utilizan glutamato (glu) como neurotransmisor. En rojo, los núcleos que utilizan ácido gamma-aminobutírico (GABA) como neurotransmisor. Las flechas rojas indican inhibición, las flechas azules indican activación, y las flechas tachadas indican que la actividad del núcleo ha sido inhibida. Las flechas indican el flujo de información y el neurotransmisor utilizado.

### 1.4.3 La vía hiperdirecta

Recientemente se ha planteado la existencia de una tercera vía conocida como la vía hiperdirecta, que provoca el bloqueo de la vía directa a través del NST (Aron y Poldrack, 2006; Nambu y cols., 2002). El NST recibe conexiones de la corteza, por lo tanto, es un núcleo de entrada de los GB, junto con el estriado. La corteza activa al NST mediante sus conexiones excitatorias. A su vez, el NST activa al GPi y a la SNr, lo que da lugar a un aumento de su actividad inhibitoria sobre el tálamo y el tronco encefálico. Esto provoca la inhibición de los núcleos corticales, dando lugar a la inhibición motora (Figura 11).



**Figura 11:** Esquema de la vía hiperdirecta de los GB mostrando los núcleos implicados y sus correspondientes neurotransmisores. En color azul se representan los núcleos que utilizan glutamato (glu) como neurotransmisor. En rojo, los núcleos que utilizan ácido gamma-aminobutírico (GABA) como neurotransmisor. Las flechas rojas indican inhibición, y las azules indican activación. Las flechas indican el flujo de información y el neurotransmisor utilizado.

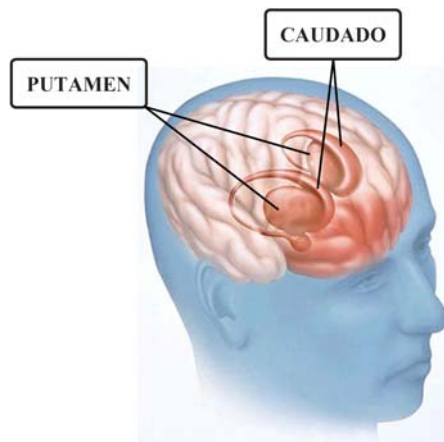
Por lo tanto, la inhibición de la respuesta motora puede producirse a través de dos vías: la vía indirecta y la vía hiperdirecta, produciéndose en ambas la activación del NST. La diferencia entre ambos mecanismos es que mediante la vía hiperdirecta la inhibición motora es más rápida al intervenir menos núcleos de los GB.

Las tres vías deben funcionar de forma coordinada para que la actividad motora se produzca de forma eficiente.

## 2. EL PUTAMEN

### 2.1 Descripción general del putamen

El putamen se sitúa lateralmente al caudado y está separado de éste por la cápsula interna (Figura 12). Putamen y caudado forman el estriado, el principal núcleo de entrada de los GB. Ambos núcleos contienen el mismo tipo de neuronas y de circuitos, por ello son considerados por muchos autores una única estructura dividida en dos partes (Utter y Basso, 2008).



**Figura 12:** Localización del putamen y el caudado. Tomado de [www.sciencemuseum.org.uk](http://www.sciencemuseum.org.uk).

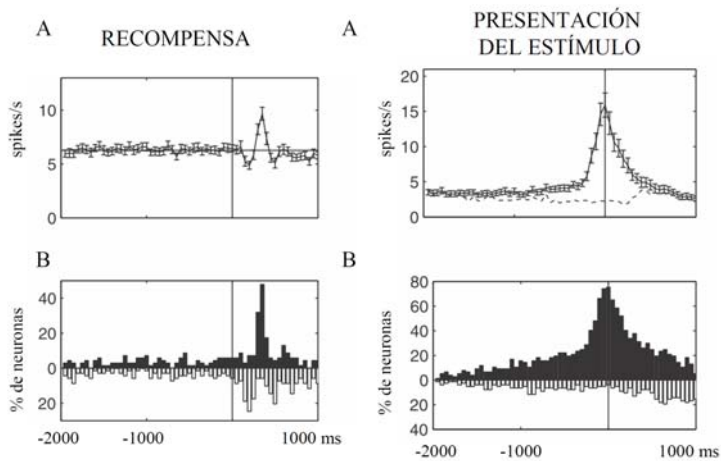
La mayor parte de las neuronas del putamen son neuronas medias espinales GABAérgicas. Este núcleo también contiene interneuronas que conectan con la SNc (entre un 3 y un 10 % de su total dependiendo de la especie animal), e interneuronas GABAérgicas, de tres tipos. Un tipo de estas interneuronas expresan la proteína parvalbumina, y reciben proyecciones de la corteza, el tálamo y del GPe. Otro tipo de interneuronas GABAérgicas expresa la óxido-nítrico-sintasa, y un último grupo expresa

calretinina. Por último, el putamen también contiene interneuronas colinérgicas que reciben proyecciones de la corteza, del tálamo, y de las neuronas medias espinales del propio putamen (Bolam y cols., 2009).

El putamen recibe numerosa y variada información de otras estructuras del cerebro. Fundamentalmente es información motora y sensorial que proviene de la corteza y del tálamo, por lo que se considera un núcleo importante en la integración de información. En cuanto a la información eferente, el putamen envía proyecciones GABAérgicas al GPe, al GPi y a la SNr, así como al núcleo dopaminérgico del mesencéfalo (Marchand, 2010). El putamen es, junto al caudado, el núcleo donde comienzan la vía directa e indirecta de los GB, por lo que tiene un papel primordial en la función motora.

Diferentes estudios electrofisiológicos han demostrado la existencia de dos poblaciones de neuronas en el putamen: neuronas con actividad fásica (PANs) y neuronas con actividad tónica (TANs) (Blázquez y cols., 2002; Yamada y cols., 2004; Lee y cols., 2006). Las PANs son neuronas medias espinales que presentan una descarga basal baja, mientras que las TANs son interneuronas colinérgicas caracterizadas por una descarga basal alta (Apicella y cols., 1997; Kimura y cols., 1996; Wilson y cols., 1990). Más específicamente, las PANs muestran una descarga basal menor de 2 spikes/s mientras que las TANs muestran una descarga basal igual o mayor de 2 spikes/s (Blázquez y cols., 2002; Yamada y cols., 2004; Lee y cols., 2006). Según Apicella. (2002) las PANs aumentan su actividad de forma sostenida o transitoria, en cambio las TANs disminuyen su tasa de descarga ante la presentación de estímulos. Además se han identificado diferentes funciones para estas dos poblaciones neuronales: las PANs se relacionan con el movimiento y aprendizaje de respuestas motoras ante estímulos y se activan en diferentes fases de la ejecución de la tarea. Las TANs se relacionan con el procesamiento de estímulos de la tarea como estímulos condicionados y estímulos reforzantes, por lo que tienen un importante papel en el aprendizaje de la

asociación estímulo-recompensa (Deffains y cols., 2010, Ravel y cols., 2001). En la Figura 13 se presentan ejemplos de neuronas TAN y PAN registradas en el putamen.



**Figuras 13:** Población de TANS (columna de la izquierda) sincronizadas con la presentación del estímulo que predice la presentación de recompensa  $N=69$  neuronas. Población de PANS (columna de la derecha) sincronizadas con el movimiento realizado tras la presentación de un estímulo.  $N=78$  A: Media de la población. B: Histogramas de neuronas que incrementan (negro) o disminuyen (blanco) su actividad basal. Bin=50ms. Modificado de Lee y cols. (2006).

## 2.2 Funciones del putamen

El putamen ha sido relacionado tradicionalmente con el control del movimiento (Georgopoulos y cols., 1983; Kimura y cols., 1984). Esta relación se observó en los pacientes con trastornos motores como la enfermedad del Parkinson, y la enfermedad de Huntington. En general, este tipo de trastornos están relacionados con alteraciones en los GB, y se caracterizan por síntomas motores como temblores, lentitud de movimientos, aparición de movimientos involuntarios, alteración de la postura y del tono muscular, etc. (DeLong y Wichman, 2007).

Sin embargo, el control motor no es la única función del putamen. Numerosos estudios electrofisiológicos han puesto de manifiesto la importancia del putamen en el aprendizaje asociativo. Se ha demostrado que este núcleo participa en el aprendizaje de las relaciones entre estímulos y sus consecuencias (Blázquez y cols., 2002, Hadj-Bouziane y Boussaoud, 2003). También se ha demostrado su papel en el procesamiento de estímulos sensoriales (Kimura, 1992; Yamada y cols., 2004), así como en varias funciones cognitivas (Brown y cols., 1997; Zgaljardic y cols., 2004). A continuación se realizará una descripción más detallada de las diferentes funciones del putamen.

### **2.2.1 Procesamiento de estímulos sensoriales**

El putamen está implicado en el procesamiento de estímulos sensoriales. Esta información sensorial proviene fundamentalmente de los colículos superiores que envían información visual al putamen a través del tálamo (McHaffie y cols., 2005; Redgrave y cols., 2010) y de la corteza, de la que recibe conexiones directas (Bolam y cols., 2009). Kimura (1992) registró en primates neuronas del putamen que se activaban ante la presentación de estímulos visuales. Estas neuronas se agrupaban en dos poblaciones en función de su perfil de activación. Una población mostraba una alta activación ante los estímulos visuales que indicaban al animal que debía realizar un movimiento para obtener recompensa y una baja activación ante los estímulos visuales que indicaban que no debía realizar ningún movimiento. Estos datos sugieren que esta población de neuronas del putamen procesa tanto la información visual como la información relacionada con la recompensa. La otra población neuronal mostraba la misma actividad ante los dos tipos de estímulos visuales, lo que significa que esta población de neuronas únicamente procesa la información visual. Igualmente Graziano y Gross (1993) describieron actividad visual en el putamen de primates y Schulz y cols. (2009) en el estriado de ratas.

Respecto al procesamiento de información auditiva, Kimura (1992) describió actividad auditiva en el putamen de primates. También Chudler y cols. (1995) estudiaron neuronas moduladas por estímulos auditivos en el putamen de ratas.

Algunos autores han descrito actividad somatosensorial en el putamen. Así, Graziano y cols. (1993) descubrieron en primates neuronas con respuestas a estímulos somatosensoriales como el movimiento de una articulación o la presión sobre un músculo. Estudios con ratas también muestran actividad somatosensorial en el putamen (Chudler y cols., 1995).

Por último, se han descrito neuronas multisensoriales en algunos núcleos de los GB. Graziano y Gross (1993) hallaron neuronas del putamen de primates que mostraban cambios de actividad ante estímulos visuales y somatosensoriales. En un estudio realizado en ratas, Chudler y cols. (1995) registraron actividad neuronal ante estímulos auditivos y somatosensoriales en el putamen. Además, Nagy y cols. (2005) demostraron que en la SN y el caudado de gatos, la misma neurona se activaba ante estímulos visuales, auditivos y somatosensoriales. Todos estos datos sugieren la existencia de proyecciones que llevan información multisensorial procedente de diferentes estructuras cerebrales al putamen, donde es integrada y procesada.

### **2.2.2. Aprendizaje**

Estudios electrofisiológicos y estudios de pacientes con alteraciones en los GB han puesto de manifiesto la relación del putamen con el aprendizaje. El sustrato neuronal de esta relación se halla en el circuito límbico, que conecta el tálamo con el área cingulada anterior y la corteza orbitofrontal interna.

Numerosos estudios electrofisiológicos han descrito el papel de las neuronas del putamen en el aprendizaje de conductas encaminadas a obtener recompensa. Así,

trabajos como los de Barnes y cols. (2005), Tang y cols. (2007), y Tang y cols. (2009) en ratas, describen neuronas del putamen que aumentan su actividad basal durante el aprendizaje de una secuencia de movimientos para obtener recompensa. Sin embargo, esta actividad disminuye tras la adquisición del aprendizaje. Estos datos sugieren que el putamen está implicado en el aprendizaje de actos motores.

Otro amplio grupo de estudios realizados en primates se centran en analizar la actividad neuronal del putamen ante la presentación de recompensa. Varios autores han descrito cambios de actividad en las neuronas del putamen en ensayos en los que el animal recibía recompensa sin requerimiento motor ni presentación estimular previa (Apicella y cols., 1997; Ravel y cols., 2003). Por otra parte, otros estudios han demostrado que las neuronas del putamen cambian su actividad ante los estímulos presentados antes de la recompensa (Kimura y cols., 1984; Tobler y cols., 2003; Yamada y cols., 2004). Además, Hikosaka y cols. (1989b) mostraron neuronas del putamen que se activaban antes de la presentación de la recompensa, a las que llamaron ‘neuronas relacionadas con la expectación de recompensa’. Los mismos resultados fueron obtenidos por otros autores (Schultz y Romo, 1992; Tremblay y cols., 1998). Asimismo, se ha demostrado que el putamen procesa otras variables relacionadas con un estímulo reforzante como la magnitud (Cromwell y Schultz, 2003; Cromwell y cols., 2005) y la proximidad temporal de la recompensa (Shidara y cols., 1998).

Además, varios estudios muestran que el putamen se activa ante estímulos gratificantes como comida o agua, y también ante estímulos aversivos como un soplo de aire en la cara del animal (Blázquez y cols., 2002; Yamada y cols., 2004). Estos datos indican que el putamen participa en el procesamiento de estímulos que desencadenan tanto consecuencias positivas como consecuencias negativas.

### 2.2.3 Movimiento

El putamen tiene un relevante papel en la ejecución de movimientos. A través de la corteza el putamen recibe información motora, enviando éste a su vez la información a otros núcleos de los GB. Finalmente, los núcleos de salida de los GB (el GPi y la SNr) serán los encargados de enviar información motora a la corteza a través del tálamo.

Uno de los mecanismos utilizados para estudiar la actividad motora en el putamen implica el uso de tareas de condicionamiento operante. En ellas los animales deben realizar una acción ante la presentación de ciertos estímulos para conseguir una recompensa, por lo que deben aprender la relación entre un estímulo, una acción concreta y su consecuencia (la presentación de una recompensa en este caso). Mediante el uso de tareas de condicionamiento operante varios autores han mostrado cambios de actividad en neuronas del putamen de monos rhesus (macaca mulatta) durante la ejecución de movimientos, lo que indica que este núcleo participa en la función motora. Por ejemplo, Jaeger y cols. (1995) estudiaron neuronas del putamen que aumentaban su actividad durante la ejecución de varios de movimientos. En un trabajo más reciente, Lee y Assad (2003) registraron neuronas del putamen que se activaban durante el movimiento realizado por el animal sobre un mando para obtener recompensa. Sin embargo, otros autores defienden que el papel del putamen está más relacionado con el control continuo de movimientos sucesivos que con la ejecución de movimientos individuales. Así, trabajos de Afanas'ev y cols (2004), y de Filatova y cols. (2004) describen neuronas del putamen que se activan durante la realización de una secuencia de movimientos.

Por otro lado, se ha observado que la actividad neuronal del putamen cambia tras un largo entrenamiento durante la ejecución de tareas motoras. Estudios en los que se entrenaban ratas para realizar movimientos específicos seguidos de recompensa mostraron una disminución de la actividad neuronal tras la repetición de un gran

número de ensayos (Barnes y cols., 2005; Tang y cols., 2007, Tang y cols., 2009) Esta disminución de la actividad neuronal puede estar relacionada con la automatización del movimiento requerido. Cuando se aprende una tarea motora rutinaria, los movimientos se automatizan produciéndose una disminución de la actividad del putamen. Por ello, es posible que este núcleo esté relacionado con el aprendizaje de hábitos motores. Los datos obtenidos por Pasupathy y Miller (2005) apoyan esta teoría. Cuando el hábito motor es aprendido, la información es enviada del putamen a la corteza, produciéndose la automatización del movimiento.

Estos autores han sugerido que el putamen es el responsable de la adquisición de un hábito motor. Cuando éste es adquirido por la corteza, de forma que se convierte en un movimiento automático, el putamen ya ha cumplido su papel por lo que disminuye su actividad. De esta forma, los GB se activan durante la fase de aprendizaje pero disminuyen su actividad cuando ésta finaliza, produciéndose un aumento de la actividad cortical responsable del movimiento automático.

Además del papel del putamen en la ejecución de movimientos, también se ha demostrado su relación con otras variables de una tarea visuomotora. Así, Ravel y cols. (2006) han estudiado en primates la sensibilidad de neuronas del putamen a la localización del estímulo que indica que el animal debe realizar un movimiento. Concretamente, mostraron neuronas que se activan ante la presentación contralateral del estímulo al brazo que ejecuta el movimiento, y no ante la presentación ipsilateral del estímulo. También hallaron neuronas cuya respuesta depende de la dirección del movimiento realizado. Esta modulación neuronal sugiere un papel del putamen en el procesamiento de variables espaciales tanto del estímulo como del movimiento. La influencia de la dirección del movimiento en la actividad del putamen se ha descrito en otros trabajos con monos rhesus (Crutcher y DeLong, 1984; Pasquereau y cols., 2007; Ueda y Kimura, 2003). Además Tang y cols. (2007) registraron actividad del putamen modulada por otros parámetros del movimiento, como la duración, la longitud y la velocidad de éste.

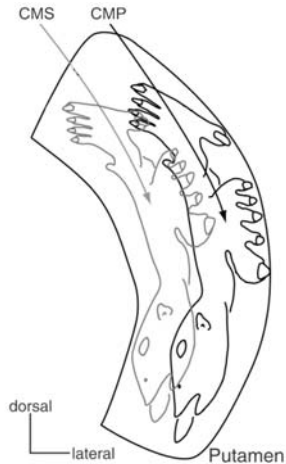
### 2.2.4 Somatotopía

La somatotopía se refiere a la representación topográfica del cuerpo en el cerebro. La organización somatotópica en la corteza motora primaria y la corteza somatosensorial primaria ha sido ampliamente estudiada (Penfield, 1950).

Las conexiones procedentes de la corteza motora y somatosensorial inervan áreas específicas de los GB, mostrando una distribución somatotópica. La corteza motora y somatosensorial envían proyecciones a los GB a través de dos vías: la vía corticoestriada y la vía corticosubtalámica (Nakano y cols., 2000; Parent y Hazrati, 1995). La vía corticoestriada está formada por la corteza somatosensorial, motora y premotora que inervan el putamen postcomisural y la cabeza del caudado dorsolateral, por la corteza de asociación que inerva el putamen precomisural y gran parte del caudado, y por el hipocampo, por la amígdala y por otros núcleos del sistema límbico que inervan el estriado ventral. La vía corticosubtalámica, está formada por la corteza motora que inerva la mayor parte del NST. Por lo tanto, la llegada de información a los núcleos de entrada de los GB, estriado y NST, se realiza de forma ordenada dando lugar a vías diferenciadas anatómicamente.

La región del putamen posterior a la comisura anterior (putamen caudal) muestra una clara somatotopía (Nambu, 2011; Romanelli y cols. 2005). Así, la corteza motora primaria (CMP) y la corteza motora suplementaria (CMS) envían conexiones al putamen lateral y al putamen medial respectivamente. Estas áreas del putamen muestran una organización somatotópica dorsoventral de forma que la representación de la pierna se localiza en la zona dorsal, la del brazo en el centro y la de la cara en la zona ventral. Las proyecciones que provienen de la CMP se localizan en el putamen lateral, mientras que las provenientes de la CMS se localizan en el putamen medial (Figura 14).

El NST, el globo pálido, y la SN también muestran somatotopía. Esto indica que la información motora relativa a las diferentes partes del cuerpo es procesada de forma independiente por los núcleos pertenecientes a los GB.



**Figura 14:** Somatotopía del putamen representada en una sección frontal. La parte lateral del putamen recibe inervación de la corteza motora primaria (CMP) mientras que la parte medial recibe inervación de la corteza motora suplementaria (CMS). Tomado de Nambu (2011).

### 2.2.5 Cognición

Enfermedades caracterizadas por una alteración en los GB, como el Parkinson, han demostrado la implicación del putamen en procesos cognitivos. Los pacientes con este tipo de enfermedades presentan, además de alteraciones motoras, alteraciones cognitivas como problemas de atención y de memoria. Por ejemplo, los pacientes con la enfermedad de Parkinson muestran déficits en la ejecución de tareas que requieren atender a estímulos relevantes e ignorar otros estímulos considerados irrelevantes. Además, se han hallado alteraciones en la detección y evaluación de estímulos así como en el cambio del foco atencional (Brown y cols., 1997). Esta enfermedad también se caracteriza por alteraciones en las habilidades visuoespaciales y visuoespaciales (Drago y cols., 2009; Zgaljardic y cols., 2004). En cuanto a la memoria, se han hallado alteraciones en las estrategias de codificación y recuerdo en la memoria a largo plazo, así como en la memoria procedimental y la memoria a corto plazo. (Bosboom y cols., 2004; Girotti y cols., 2003). Asimismo, se han observado alteraciones en el lenguaje y el habla a nivel semántico y sintáctico (Skeel y cols., 2001). Los pacientes de Parkinson también muestran problemas en tareas ejecutivas como la planificación de acciones y la ejecución de planes futuros (Raskin y cols., 2011). Por último, es común la aparición de trastornos psiquiátricos como la depresión en este tipo de pacientes, así como desórdenes de ansiedad, apatía, psicosis, y demencia (Ring y Serra-Mestres, 2002).

Estas alteraciones cognitivas ponen de manifiesto el papel del putamen y, de forma general de los GB, en los procesos cognitivos. Por lo tanto, deben tenerse en cuenta estos aspectos para el diseño de las tareas utilizadas para estudiar la actividad neuronal de los citados núcleos.



## OBJETIVO

---



El objetivo del presente trabajo ha sido describir las características de la actividad neuronal en el putamen durante la realización de una tarea en la que se presentan estímulos de dos diferentes modalidades sensoriales (visual y auditiva) que requiere una respuesta motora correcta para la obtención de recompensa.



## MATERIAL Y MÉTODOS

---



El presente estudio se ha realizado con dos monos rhesus macho (*macaca mulatta*) de aproximadamente 8 kg. de peso entrenados para realizar una tarea en la que se requiere interpretar un mensaje visual y/o auditivo y responder con un acto motor determinado para obtener una recompensa. El método utilizado para el entrenamiento, el sistema de estimulación y los registros neuronales fueron similares a los descritos por Poggio y cols. (1988), Gonzalez y Krause (1994), y Gonzalez y cols. (1993, 1996, 2001). Todos los procedimientos realizados con los animales siguieron las indicaciones y obtuvieron el permiso del Comité de Bioética de la Universidad de Santiago de Compostela.

## **1. PREPARACIÓN Y ENTRENAMIENTO DEL ANIMAL**

Antes de iniciar el entrenamiento, se examinaron la refracción, el fondo de ojo y los movimientos oculares del animal para comprobar que no existía ninguna alteración que pudiese afectar a los resultados del experimento. El progreso de los animales durante los entrenamientos fue detalladamente descrito en un diario.

En el habitáculo donde se alojaba el animal se colocó un monitor donde se presentaba un estímulo visual, una palanca para responder, y un sistema de dispensación automática de zumo. El estímulo consistía en una línea vertical negra que se presentaba cada 2 segundos en el centro del monitor. El animal, que se mantenía bajo una dieta sin agua, tenía que presionar la palanca ante la presentación de este estímulo y soltarla tan pronto se convertía en cruz. Cada vez que presionaba la palanca correctamente recibía

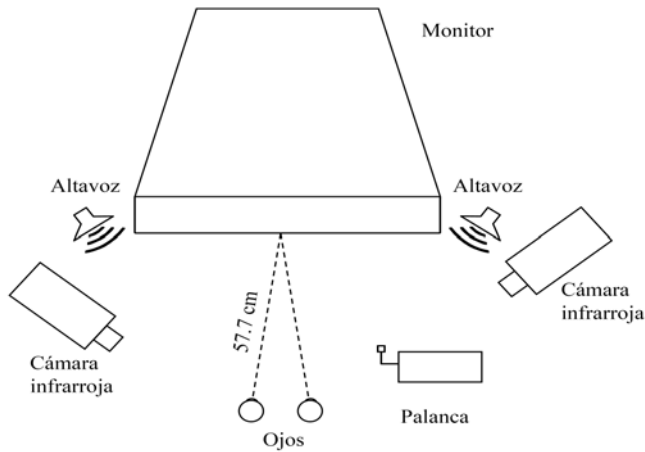
0.1 ml de agua. Trabajaba aproximadamente tres horas completando una media de 1000 ensayos al día, por lo que recibía una media de 100 ml de zumo. Si su rendimiento diario no cubría los requerimientos mínimos el agua restante le era suministrada manualmente al final del día. El entrenamiento se realizó controlando el rendimiento. Los tiempos de reacción y el tamaño del estímulo se redujeron progresivamente en función de los avances del animal. Los intervalos entre los ensayos (entre 1 y 3 segundos), eran cambiados de forma aleatoria para evitar la inatención y la emisión de posibles respuestas al azar. El entrenamiento en estas condiciones duró aproximadamente un mes.

Cuando el animal aprendió correctamente la tarea ( $\geq 95\%$  de ensayos correctos), se continuó el entrenamiento en el laboratorio, donde se utilizó la tarea final utilizada para realizar los registros (descrita en el siguiente apartado). Durante dos horas al día de media, el animal realizaba una media de 2.000 ensayos al día, por los que recibía un total 100 ml de zumo. Para realizar estos entrenamientos, el animal se colocaba sobre una silla especialmente diseñada para primates, frente a un monitor y dos altavoces en los que se presentaba la tarea. La silla contaba en su parte frontal con dos puertas a través de las cuales el animal accedía a la palanca con una de sus manos. Mediante un sistema de puertas, se le permitía el acceso a la palanca sólo con una de las dos manos. El animal fue entrenado para realizar la tarea con ambas manos.

Una vez realizaron la tarea con un 90% de aciertos, se procedió a una intervención quirúrgica en la que les fue implantado un sistema de fijación, consistente en un poste metálico unido a la parte anterior del cráneo con cemento dental sobre una base de tornillos de acero inoxidable. Este sistema de fijación es necesario para impedir movimientos de la cabeza que desestabilizarían el registro neuronal y dificultarían el control de los movimientos oculares durante la ejecución de la tarea. Los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico (10 mg/Kg por vía intravenosa), previa inducción con ketamina (10 mg/Kg por vía intramuscular). Se les administraron 10 mg de pentobarbital sódico cada 25 minutos aproximadamente para mantener un nivel de

anestesia constante y estable durante toda la intervención. Al finalizar la intervención se les administraron intramuscularmente antibióticos (Penicilina, 50.000 IU/Kg) y analgésicos (Noramidopirina 150 mg/Kg, Nolotil, Europharma). Después de la implantación del sistema de fijación se realizaba periódicamente una limpieza de la zona del implante.

Cuando los animales se recuperaron de la cirugía, se continuó con el entrenamiento en el laboratorio. Los movimientos de los ojos fueron controlados con un sistema de videocámara con luz infrarroja y una tarjeta digitalizadora (Imagination, modelo PXC200, Oregón, USA). De esta forma se detectaba el reflejo corneal izquierdo, que era almacenado en un ordenador personal convencional con una resolución de 20 minutos de arco y una frecuencia de muestreo de 25 Hz. El reflejo corneal quedaba enmarcado dentro de una ventana que abarcaba el ángulo visual de la imagen de la tarea (18.5x18.5 grados) presentada a los animales. Se excluyeron los ensayos en los que el reflejo corneal salía de los bordes de la ventana ya que en estos casos se consideraba que los animales no estaban mirando hacia la imagen presentada en el monitor. Los movimientos de la mano también eran monitorizados con ayuda de otra cámara infrarroja (Figura 15).



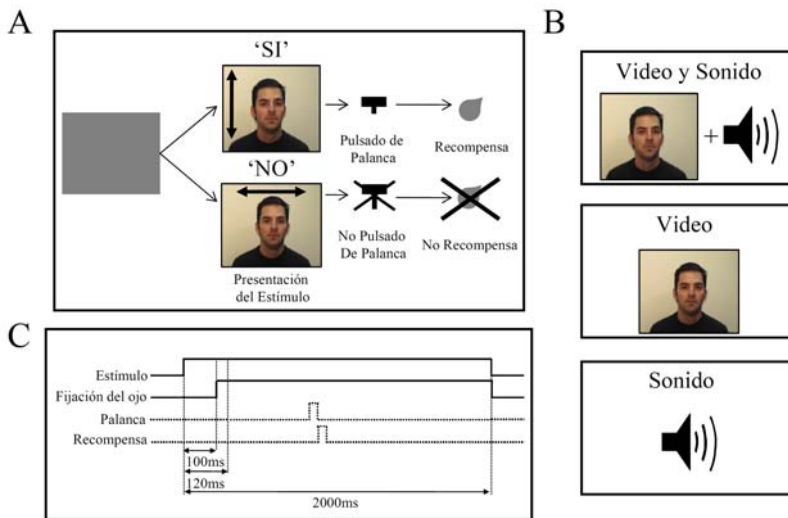
**Figura 15:** Dibujo esquemático mostrando la distribución de los componentes de la tarea. Con una cámara infrarroja (izquierda) se monitorizó la posición ocular, y con la otra (derecha) los movimientos de la mano que pulsaba la palanca.

Cuando los animales alcanzaron de nuevo un 90% de ensayos correctos en la tarea se les sometió a una nueva intervención quirúrgica para implantar el sistema de registro. Bajo anestesia general y siguiendo un procedimiento similar al descrito anteriormente para el poste de fijación, se implantó en el hemisferio izquierdo, un cilindro de acero inoxidable de 20 mm de diámetro dejando expuesto el cráneo en su interior en las coordenadas estereotáxicas 15 lateral, 13 anterior con respecto al eje interaural. Para acceder al putamen, se anestesiaba a los animales con pentobarbital sódico (10mg/Kg por vía intravenosa), previa inducción con ketamina (10gm/Kg por vía intramuscular), y se realizaron craneotomías de 5 mm de diámetro en el interior del cilindro dejando expuesta la duramadre que era atravesada por los microelectrodos durante los registros. Cuando el engrosamiento de la duramadre impedía su penetración con el microelectrodo, se realizaba una nueva craneotomía dentro del cilindro. Esto sucedía aproximadamente cada 15 penetraciones. Realizábamos una penetración al día. Un micromanipulador de microelectrodos electro-hidráulico (Narishige, Tokio, Japón) acoplado al cilindro durante los experimentos permitía la manipulación del microelectrodo.

## 2. TAREA Y SISTEMA DE ESTIMULACIÓN

La tarea consistía en la presentación de vídeos de 2 segundos de duración grabados en nuestro laboratorio con una cámara de vídeo convencional. Los vídeos utilizados eran de dos tipos: en uno se presentaba la cara de una persona diciendo ‘sí’ a la vez que movía la cabeza verticalmente (ensayos ‘Sí’), y en el otro tipo de vídeo aparecía la misma cara diciendo ‘no’ mientras movía la cabeza horizontalmente (ensayos ‘No’) (Figura 16A). Los animales tenían que presionar una palanca ante los ensayos ‘Sí’ para recibir recompensa y no responder ante los ensayos ‘No’. En total se utilizaron 200 vídeos de la misma persona, 100 eran ensayos ‘Sí’ y 100 ensayos ‘No’.

Había tres condiciones sensoriales (Figura 16B): presentación de la imagen junto con el correspondiente sonido (Vídeo y Sonido), presentación de la imagen sin el sonido (Sólo Vídeo), y presentación del sonido sin la imagen (Sólo Sonido). Durante los registros también se usó en ocasiones una cuarta condición experimental en la que el animal recibía recompensa sin presentar previamente ningún tipo de estímulo ni realizar ningún tipo de movimiento (Sólo Recompensa). Las tres primeras condiciones sensoriales se presentaban de forma aleatoria. El período de espera entre cada ensayo fue de 300 ms. En los ensayos ‘Sí’, los animales debían responder entre los 120 ms siguientes a la aparición del estímulo y los 2000 ms que duraba cada presentación del estímulo. La imagen de cada vídeo aparecía a los 100 ms del comienzo del ensayo y el sonido a una media de 358 ms. Tras pulsar la palanca ante un ensayo ‘Sí’ los animales recibían inmediatamente la recompensa, que consistía en 0.1 ml de zumo de manzana. En la Figura 16C puede verse un cronograma de la tarea.



**Figura 16:** Esquema de la tarea. A, Secuencia de la tarea para la condición ‘Sólo Vídeo’. Los animales tenían que pulsar palanca para recibir recompensa ante los ensayos ‘Sí’ y no pulsar palanca ante los ensayos ‘No’, que no eran recompensados. B, Esquema de las tres condiciones sensoriales utilizadas: Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido C, Cronograma de la tarea. El tiempo mínimo de espera para pulsar palanca tras la presentación del estímulo era de 120 ms. Ver texto para descripción detallada.

Se consideró error cuando los animales presionaban la palanca antes de tiempo (antes de los 120 ms siguientes a la aparición del estímulo), respondían ante un ensayo ‘No’, o no respondían ante un ensayo ‘Sí’. En los dos primeros casos, el ensayo era repetido hasta que se ejecutaba correctamente, para evitar el aborto intencionado del ensayo. Cuando los animales cerraban los ojos o desviaban la vista de la pantalla del monitor, también era considerado un error y el ensayo era repetido.

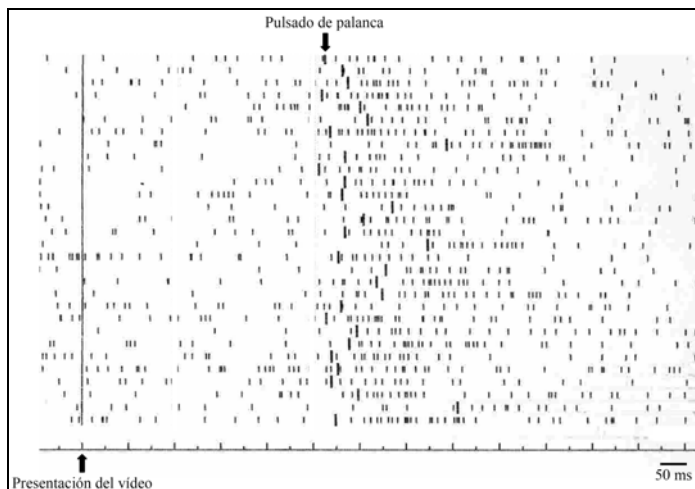
### 3. REGISTRO DE LOS DATOS

La estimulación y recogida de datos se realizó utilizando ordenadores personales convencionales y programas desarrollados en nuestro laboratorio. Un preamplificador incrementaba la intensidad de la señal recogida por el microelectrodo antes de ser filtrada. La actividad neuronal podía ser evaluada a tiempo real mediante un osciloscopio, que permitía visualizar los potenciales de acción de las neuronas, y un sistema de audio que transformaba la señal en sonidos, los cuales ayudaban a la identificación de la actividad neuronal. Para aislar los potenciales de acción de una sola neurona durante el registro se utilizó un discriminador de ventana tiempo-amplitud (Bak Electronics, Rockville, Maryland, USA) que convertía la señal neuronal filtrada y amplificada a pulsos que el ordenador muestreó a 1 KHz y almacenó conjuntamente con toda la información relativa al tipo de estímulo utilizado y a las condiciones del experimento. Simultáneamente se registraba la actividad neuronal captada por el microelectrodo mediante un convertidor analógico-digital con una velocidad de muestreo de 50 KHz. Esta señal se utilizó posteriormente para aislar la actividad de las neuronas de forma individualizada.

Los microelectrodos de tungsteno utilizados mostraron impedancias próximas a los 5 megaohmios (A-M Systems Inc., Carlsborg, USA). Las penetraciones se realizaban perpendicularmente a la superficie de la corteza hasta alcanzar el putamen. Antes de comenzar los experimentos, se retiraba el tejido granulado del interior del cilindro con un sistema de aspiración. Un microscopio de cirugía (Takagi, OM-5, Japón) permitía observar la penetración del microelectrodo a través de la duramadre, anotando la posición de ésta en la craneotomía en un diario.

La evaluación ‘on line’ de la actividad neuronal se realizó representando las descargas neuronales en forma de ‘rasters’ (Figura 17). En estas representaciones, las descargas neuronales que sobrepasaban un umbral seleccionado en el laboratorio según las características individuales de cada neurona, eran representadas como pequeños

puntos en un monitor ('rasters'). Los eventos relevantes de la tarea como la aparición del estímulo, el pulsado de palanca o la emisión de recompensa, eran representados como líneas verticales. Cuando se encontraba actividad relacionada con la tarea, visible 'on line' por una mayor cantidad de puntos en una zona determinada del 'raster', se procedía al registro de la señal, hasta conseguir como mínimo 20 ensayos para cada condición experimental. Diariamente tras los experimentos se imprimían los rasters de las neuronas registradas, Se obtenía un raster para cada condición experimental separando los ensayos 'Sí' de los 'No'. Estos rasters eran analizados cualitativamente y clasificados según el tipo de actividad neuronal mostrada. Una vez finalizados los experimentos, se realizaron análisis cuantitativos más detallados.



**Figura 17:** Raster de una neurona para los ensayos 'Sí' de la condición sensorial Sólo Vídeo. Cada fila representa un ensayo y cada punto un potencial de acción. Las pequeñas líneas verticales que aparecen en la mitad del raster se corresponden con el pulsado de palanca. La línea vertical representa la aparición del vídeo.

## **4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS**

### **4.1 Datos de comportamiento**

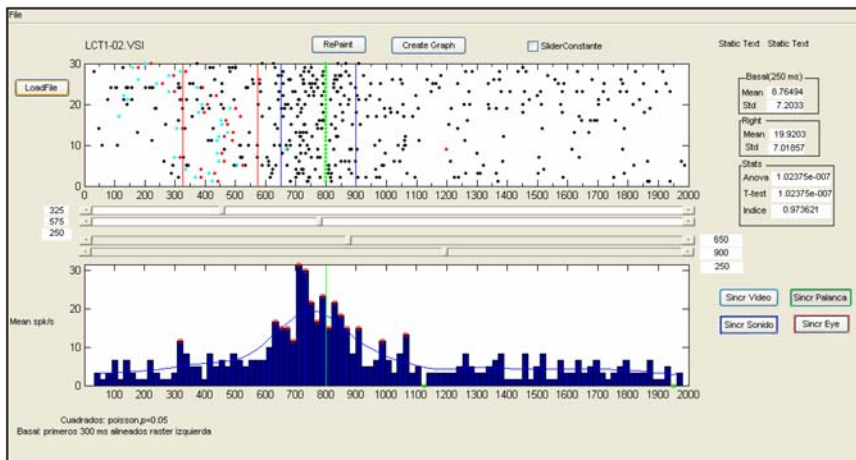
Tras los experimentos se analizaron los tiempos de reacción de cada animal durante la realización de la tarea, comparando los tiempos de reacción entre los dos monos y entre cada condición sensorial (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido). Para realizar estas comparaciones se utilizó el test ANOVA, y el test no paramétrico Kruskal-Wallis tomando como nivel de significación estadística  $P < 0.05$ . Además se construyeron histogramas mostrando la distribución del tiempo de reacción para cada animal para las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido) en los que el eje vertical indicaba la frecuencia y el eje horizontal el tiempo de reacción. Estos histogramas nos permitieron comparar la distribución de los tiempos de reacción entre los dos animales y las tres condiciones sensoriales. Asimismo, se analizaron los diferentes tipos de error cometidos durante los experimentos: falsa alarma cuando los animales pulsaban palanca ante un ensayo 'No', error por omisión cuando no pulsaban palanca en los ensayos 'Sí', y error por anticipación cuando pulsaban la palanca antes de tiempo, esto es, antes de los 120 ms tras la presentación del estímulo.

### **4.2 Datos neuronales**

Durante los experimentos se registraba la actividad multineuronal. Posteriormente ('off-line') se aislaron las neuronas individuales del registro multineuronal obtenido con el convertidor analógico-digital mediante un programa discriminador de ventana tiempo-amplitud desarrollado en nuestro laboratorio. De cada registro se aislaba un promedio de tres neuronas.

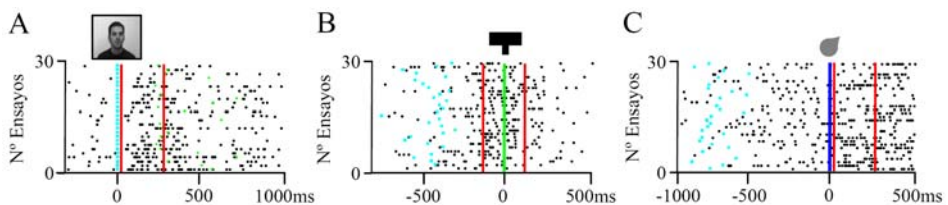
Para analizar los datos estadísticamente se construyó un raster y un histograma para cada neurona (Figura 18) usando 'scripts' de Matlab diseñados en nuestro

laboratorio (Matlab, The Mathworks Inc., Natwick, USA). Se obtenía un raster y un histograma para cada condición sensorial (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido), y un raster y un histograma para los ensayos ‘Sí’ y ‘No’ por separado. Estos ‘scripts’ nos permitían sincronizar los ensayos con los diferentes eventos de la tarea (inicio del ensayo, aparición del estímulo y pulsado de palanca) y seleccionar aquellos intervalos de tiempo deseados para realizar los análisis estadísticos de forma automática. De esta forma, era posible analizar tanto cualitativa como cuantitativamente la influencia de los estímulos, del pulsado de palanca, y de la recompensa en la actividad neuronal.



**Figura 18:** Ventana del programa desarrollado en Matlab en nuestro laboratorio para analizar la actividad neuronal. En la imagen se presenta el raster (arriba) y el histograma (abajo) de una neurona motora cuya actividad está sincronizada con el pulsado de palanca (línea vertical verde). En el raster cada punto negro representa un potencial de acción, cada punto azul claro la aparición del estímulo visual, cada punto rojo el control de la posición ocular, y cada punto verde el pulsado de palanca. Las líneas rojas y azules representan las ventanas temporales entre las que se realizan las mediciones de la actividad neuronal. En el histograma cada barra representa la media de la suma de los potenciales de acción en ese intervalo. La línea azul sobre el histograma son los datos suavizados. Los puntos rojos sobre las barras del histograma indican las barras que sobrepasan significativamente el valor basal (Poisson,  $P < 0.05$ ). Los verdes indican las barras que tienen un valor significativamente inferior al valor basal (Poisson,  $P < 0.05$ ). Los análisis estadísticos que se pueden ver en la parte derecha de la ventana del programa (desviación estándar, media, el ANOVA, etc.) se realizan sobre los datos contenidos en la ventana de tiempo comprendida entre las dos líneas verticales azul oscuro, esta ventana se puede desplazar a lo largo del raster. Bin=20 ms.

La actividad basal de cada neurona se obtuvo calculando la frecuencia de descarga durante los 250 ms previos a la presentación del estímulo. La actividad relacionada con el estímulo (visual o auditivo) se obtuvo sincronizando los ensayos con la presentación de éste calculando la frecuencia de descarga de la neurona durante los 250 ms posteriores a la presentación del estímulo (visual o auditivo). Asimismo, la actividad relacionada con el acto motor se obtuvo sincronizando los ensayos con el pulsado de palanca y calculando la frecuencia de descarga de la neurona durante los 250 ms peri-pulsado de palanca. Por último, la actividad relacionada con el procesamiento de la recompensa se estimó sincronizando los ensayos con la aparición de la recompensa y calculando la frecuencia de descarga neuronal durante los 250 ms posteriores a su aparición. Para determinar si había alteraciones significativas en la actividad neuronal durante estas fases de tarea, se comparó la actividad (spikes/s) durante los periodos indicados con la actividad basal de la neurona. (Figura 19).



**Figura 19:** Ejemplos mostrando el análisis de los distintos tipos de actividad neuronal registrados. A. Raster de una neurona visual sincronizado con la aparición del estímulo (línea azul claro). La respuesta al estímulo se cuantificó calculando la frecuencia de descarga durante los 250 ms posteriores a la presentación del estímulo (intervalo comprendido entre las dos líneas rojas verticales; ANOVA,  $P < 0.05$ ). B. Raster de una neurona relacionada con la acción motora sincronizado con el pulsado de palanca (línea verde). La respuesta se cuantificó calculando la frecuencia de descarga durante los 125 ms anteriores y posteriores al pulsado de palanca (intervalo comprendido entre las líneas rojas verticales; ANOVA,  $P < 0.05$ ). C. Raster de una neurona de recompensa sincronizado con la aparición de ésta (línea azul oscuro). La respuesta a la recompensa se cuantificó calculando la frecuencia de descarga durante los 250 ms posteriores a la presentación de recompensa (intervalo comprendido entre las líneas rojas verticales; ANOVA,  $P < 0.05$ ).

Para determinar la significación estadística de estas comparaciones se utilizó el test ANOVA con un nivel de significación de  $P < 0.05$ . Este análisis individual de las neuronas nos permitió clasificarlas en varios grupos funcionales teniendo en cuenta el periodo durante el cual se producían cambios significativos en la actividad (ver Resultados).

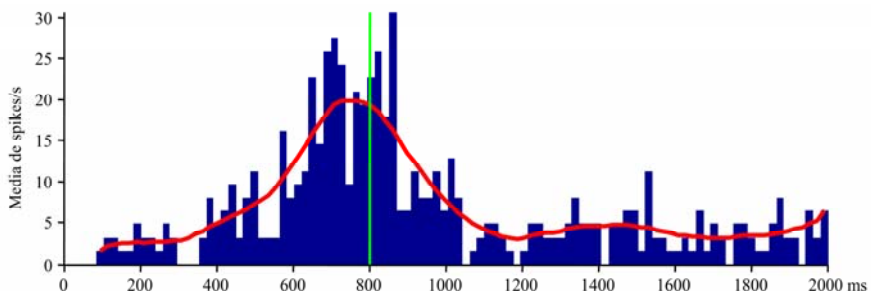
Para cada condición sensorial, se calculó la latencia de respuesta neuronal, definida como el tiempo transcurrido entre la presentación del estímulo (visual o auditivo) y el inicio del cambio de actividad en cada neurona. En el caso de las neuronas con actividad relacionada con la palanca, se determinó el tiempo entre el cambio de actividad y el momento en el que la palanca era pulsada. Para el cálculo de latencias en las *neuronas de recompensa*, el estímulo considerado fue la aparición de la recompensa de los ensayos ‘Sí’ en todas las condiciones sensoriales. Para calcular el momento en el que había un cambio significativo de actividad en cada neurona se utilizó la distribución de Poisson que determinaba qué columna (bin) del histograma era significativamente ( $P < 0.05$ ) diferente de la respuesta basal (Maunsell y Gibson, 1992; Bisley y cols., 2004). Para determinar el final del cambio de actividad se realizó el mismo tipo de análisis. El tiempo señalado por el segundo bin significativo del histograma era considerado como el inicio y el antepenúltimo como final del cambio de la actividad neuronal. Finalmente se calculó la media para cada grupo poblacional y cada condición sensorial

Una vez agrupadas las neuronas en grupos funcionales, se construyeron histogramas poblacionales para cada tipo de ensayo (Vídeo y Sonido, Solo Vídeo, y Solo Sonido; ‘Sí’ y ‘No’ separadamente para cada uno de ellos) promediando la actividad de todas las neuronas de un mismo grupo funcional. Para determinar el grado de cambio de actividad neuronal, primero se calculó la frecuencia de descarga media basal de todas las neuronas del mismo grupo funcional y después se calculó la frecuencia de descarga media durante la fase de interés de las mismas neuronas. La

diferencia entre ambas se expresó como el porcentaje del segundo valor respecto al primero.

También se calculó un índice de magnitud (IM) para cada grupo funcional y tipo de ensayo de acuerdo con la ecuación  $IM=PE/(PE+PI)$ , donde PE representa la variabilidad entre grupos y PI la variabilidad intra-grupos en el análisis ANOVA. Dicho índice tiene valores entre 0 y 1, de forma que un IM cercano a 1 indica un grado importante de selectividad al evento que genera el cambio de actividad, y es similar al utilizado por otros autores para cuantificar el grado de selectividad en la actividad neuronal (Durand y cols., 2002; Prince y cols., 2002; Romero y cols., 2007).

Tanto para los histogramas de neuronas individuales como para los histogramas poblacionales, se realizó un suavizado utilizando la función ‘smooth’ de Matlab que utiliza el método ‘moving average’ (Figura 20). Esta función promedia los valores de cada bin del histograma con un número determinado de bin anteriores y posteriores. En nuestro caso se utilizaron los 10 bin anteriores y posteriores, y se repitió la función dos veces. Este suavizado facilitó la clasificación de las neuronas en cada uno de los grupos funcionales.



**Figura 20:** Histograma y suavizado del histograma (línea roja) de una neurona relacionada con la acción motora realizado con un programa desarrollado en Matlab. La línea verde vertical representa el pulsado de palanca.

## 5. LOCALIZACIÓN ANATÓMICA DE LOS REGISTROS

Se realizó una craneotomía en el hemisferio izquierdo del animal 1 y dos craneotomías en el hemisferio izquierdo del animal 2. Las coordenadas estereotáxicas de cada craneotomía con respecto al eje interaural fueron las siguientes: 13 anterior-14 lateral en el animal 1, y 18 anterior-12 lateral, y 15 anterior-12 lateral en el animal 2. Al final de los registros de cada craneotomía se insertaron unos filamentos de polipropileno (Prolene 4-0, Ethicon Inc., Somerville, New Jersey) perpendiculares a la superficie de la corteza de unos 10 mm de longitud de color azul en el centro de cada craneotomía utilizando una aguja de punción lumbar (Spinocan, 0.47x120 mm, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Alemania). Estos filamentos fueron alojados en la posición en la que se registraron la mayoría de las neuronas presentadas en este trabajo. De esta forma, la zona de las penetraciones quedaba marcada para su posterior identificación en las preparaciones histológicas.

Al final de los experimentos, el animal 1 fue profundamente anestesiado con una sobredosis de pentobarbital sódico por vía intravenosa, mediante inducción previa con ketamina (10 mg/Kg por vía intramuscular) y perfundido con formaldehído al 10%. El cerebro fue extraído y embebido durante una semana en solución isotónica (0.2 M, pH=7.4) con sacarosa al 20% para evitar la formación de cristales durante su posterior congelación. Tras esto, se realizaron cortes seriados del cerebro de 50 micras de grosor con un microtomo de congelación que fueron teñidos con azul de Toluidina. La visualización de la histología, junto a las coordenadas estereotáxicas del cilindro de las craneotomías, las notas de laboratorio tomadas durante los registros sobre la actividad neuronal, y la profundidad de los registros marcada por el contador del micromanipulador fueron utilizados para localizar las zonas donde se realizaron los registros.

## RESULTADOS

---



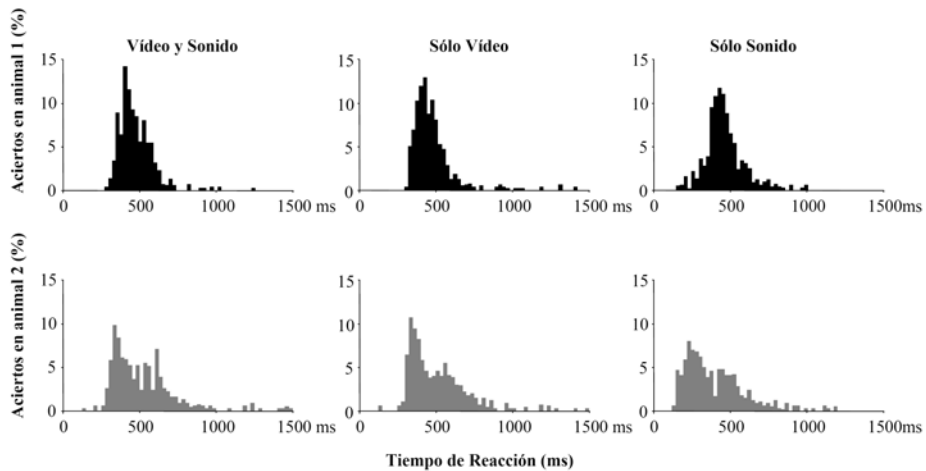
## 1. DATOS PSICOFÍSICOS

Se calculó el tiempo de reacción para los dos animales en las 3 condiciones sensoriales mencionadas anteriormente, definido éste como el tiempo transcurrido entre la presentación del estímulo y el pulsado de palanca. Los estímulos que se consideraron para este cálculo fueron: el vídeo para las condiciones Vídeo y Sonido, y Sólo Vídeo, y el sonido para la condición Sólo Sonido. En el caso del vídeo, se consideró como comienzo del estímulo la aparición del primer fotograma del vídeo. En el caso del sonido, se consideró como comienzo del estímulo la aparición del sonido al pronunciar la palabra 'Sí'. La media del tiempo de reacción para las tres condiciones fue de  $484 \pm 140$  ms para el animal 1 y de  $491 \pm 233$  ms para el animal 2 (ANOVA,  $P > 0.05$ ). Los dos animales pulsaban palanca con mayor rapidez ante la condición Sólo Sonido frente a Vídeo y Sonido, y Sólo Vídeo (ANOVA; Kruskal-Wallis;  $P < 0.05$ ). La media del tiempo de reacción ante Sólo Sonido fue de  $472 \pm 133$  ms para el animal 1 y de  $413 \pm 205$  ms para el animal 2, hallándose diferencias significativas entre los dos animales (ANOVA,  $P < 0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas para cada animal de forma independiente entre la condición Vídeo y Sonido, y la condición Sólo Vídeo (ANOVA; Kruskal-Wallis;  $P > 0.05$ ). Para la condición Vídeo y Sonido se hallaron diferencias significativas entre el animal 1, con una media de  $483 \pm 119$  ms, y el animal 2, con una media de  $536 \pm 247$  ms (ANOVA,  $P < 0.05$ ). Respecto a la condición Sólo Vídeo también se hallaron diferencias significativas entre los tiempos de reacción de los dos animales, con una media de  $496 \pm 136$  ms para el animal 1 y de  $523 \pm 224$  ms para el animal 2 (ANOVA,  $P < 0.05$ ). Las latencias de respuestas de los dos animales para las tres condiciones sensoriales se presentan en la Tabla 1. La distribución de los tiempos

de reacción se muestra en la Figura 21, en la que se indica la frecuencia de los ensayos (eje vertical) en función del tiempo de reacción (eje horizontal) para las tres condiciones sensoriales (Video y Sonido, Sólo Video, y Sólo Sonido). Puede observarse que en los tres tipos de ensayos hubo diferencias significativas entre los dos animales. El animal 1 respondió más rápidamente que el animal 2 en los ensayos con Video y Sonido y Sólo Video, mientras que la situación fue contraria para los ensayos Sólo Sonido.

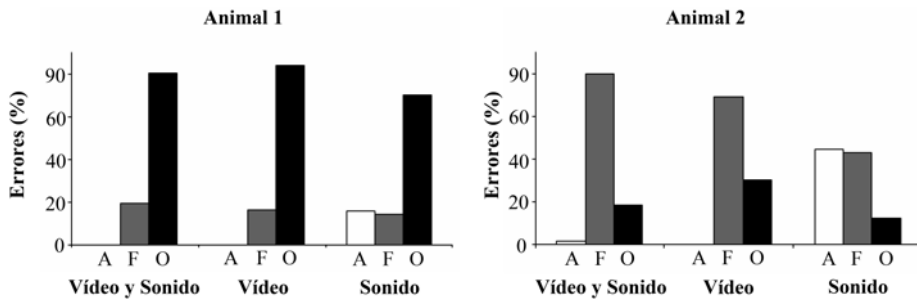
Tipo de ensayo	Tiempo de reacción		ANOVA
	Animal 1	Animal 2	
Video y Sonido	483±119 ms	536±247 ms	P<0.05
Sólo Video	496±136 ms	523±224 ms	P<0.05
Sólo Sonido	472±133 ms	413±205 ms	P<0.05

**Tabla 1:** Tiempos de reacción de los dos animales. Los valores representan el valor medio y la desviación estándar del tiempo de reacción para los ensayos ‘Sí’ correctos. En todos los casos hubo diferencias significativas entre ambos animales.



**Figura 21:** Distribución del tiempo de reacción de los ensayos ‘Sí’ correctos de cada condición sensorial para el animal 1 (arriba; histograma en negro) y el animal 2 (abajo; histogramas en gris). Para normalizar los diferentes histogramas, los datos se representan en forma de porcentajes sobre el total de aciertos de cada condición.

Al analizar los diferentes tipos de errores cometidos, se hallaron diferencias entre los dos animales. El error más común para animal 1 fue el error por omisión, que consistía en no pulsar palanca ante los ensayos ‘Sí’, mientras que para el animal 2 fue la falsa alarma, es decir, pulsar palanca ante los ensayos ‘No’. El error por anticipación, esto es, pulsar palanca antes de los primeros 120 ms tras la presentación del estímulo, no fue frecuente en ninguno de los dos animales, excepto en la condición Sólo Sonido. Los diferentes tipos de errores para cada condición sensorial y cada animal se presentan en la siguiente figura (Figura 22).



**Figura 22:** Porcentaje de los distintos tipos de errores para cada condición sensorial del animal 1 (izquierda,  $N=1000$  ensayos) y el animal 2 (derecha,  $N=1000$  ensayos). A, Error por anticipación (pulsado de palanca antes de los 120 ms tras la presentación del estímulo). F, Falsa alarma (pulsado de palanca en los ensayos ‘No’). O, Error por omisión (no pulsado de palanca en los ensayos ‘Sí’).

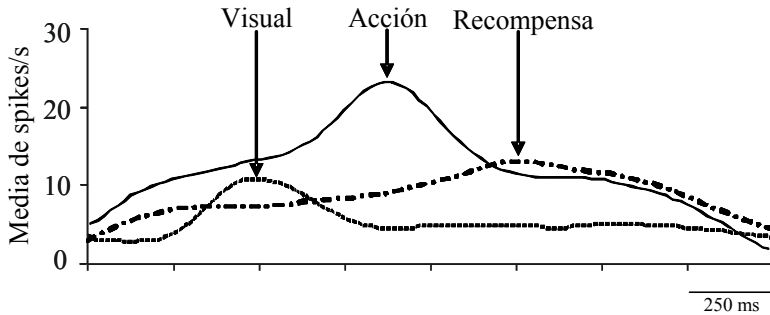
## 2. ACTIVIDAD NEURONAL

Hemos registrado 191 neuronas del putamen de las que 45 pertenecían al animal 1 y 146 al animal 2. De estas 191 neuronas, 133 (70%) mostraban cambios de actividad significativos en algún momento durante la ejecución de la tarea (ANOVA,  $P < 0.05$ ), (42 neuronas en el animal 1, y 91 neuronas en el animal 2). De las 133 neuronas, 17 (13%) incrementaron su frecuencia de descarga tras la presentación del estímulo visual en las condiciones Vídeo y Sonido, y Sólo Vídeo, y fueron clasificadas como *neuronas visuales*. Otro grupo de neuronas, 78 (59%), modificaron su actividad alrededor del pulsado de palanca, y fueron clasificadas como *neuronas relacionadas con la acción*. Esta población neuronal se dividió en tres grupos funcionales dependiendo de su perfil de actividad: *neuronas pre-acción* (N=15, 19%), *neuronas peri-acción* (N=52, 67%), y *neuronas activación-supresión* (N=11, 14%). Por último, 38 neuronas (29%) mostraron cambios de actividad durante la presentación de la recompensa, y fueron clasificadas como *neuronas de recompensa*. La Tabla 2 resume los tipos neuronales encontrados en el putamen en nuestro estudio. Las Figuras 23 y 24 muestran el perfil de actividad y la distribución de estos tres tipos de neuronas respectivamente. No se hallaron cambios de actividad relacionados con la aparición del estímulo auditivo.

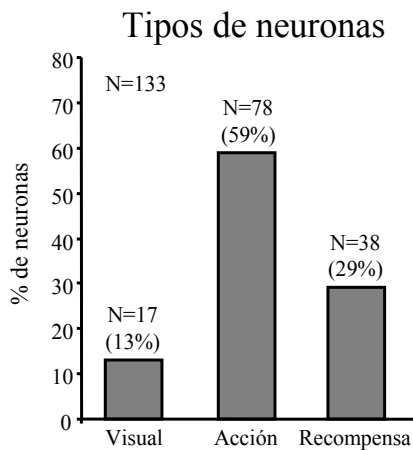
**Neuronas registradas en el putamen**

Total de neuronas registradas	191 (100%)
Con cambios de actividad durante la tarea	133 (70%)
Relacionadas con el componente visual	17 (13%)
Relacionadas con la ejecución de la acción	78 (59%)
Pre-acción	15 (19%)
Peri-acción	52 (67%)
Activación-supresión	11 (14%)
Relacionadas con la recompensa	38 (29%)

**Tabla 2:** Neuronas registradas en el putamen, indicando sus tipos funcionales.

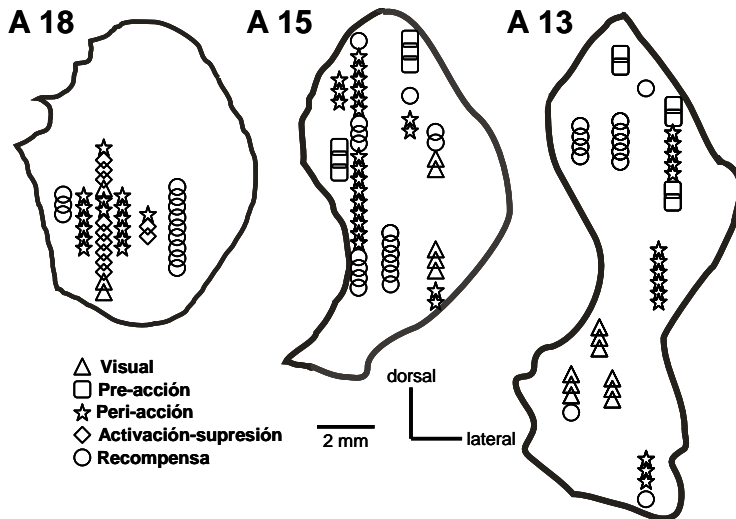


**Figura 23:** Perfil temporal de actividad de los tres grupos neuronales registrados en nuestros experimentos: neuronas visuales (línea punteada, se calculó el promedio de los ensayos ‘Sí’ y ‘No’ de la condición sensorial Vídeo y Sonido,  $N=17$ , sincronizándolos con la aparición del estímulo visual); neuronas relacionadas con la acción (línea negra continua, se calculó el promedio de los ensayos ‘Sí’ de la condición sensorial Vídeo y Sonido,  $N=78$ , sincronizándolos con el pulsado de la palanca); y neuronas de recompensa (línea discontinua, se calculó el promedio de los ensayos ‘Sí’ de la condición sensorial Vídeo y Sonido,  $N=38$ , sincronizándolos con la aparición de la recompensa). La anchura del bin sobre el que se realizó la suavización era de 20 ms. La base de tiempo con la finalidad de poder comparar los tres perfiles de actividad.



**Figura 24:** Porcentaje de los tres tipos de neuronas registradas en el putamen: relacionadas con el componente visual, relacionadas con la acción, y relacionadas con la recompensa ( $N=133$ ).

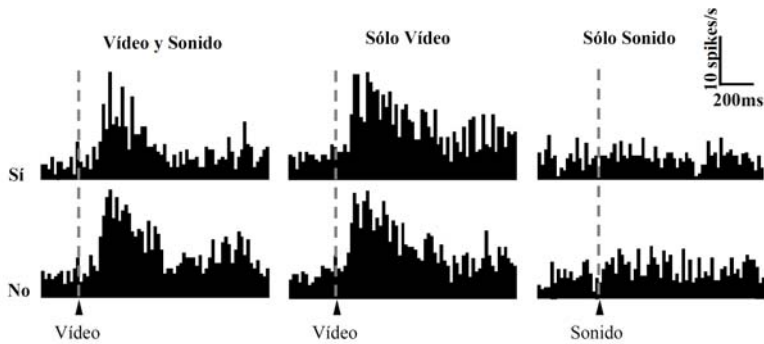
En el estudio de la localización anatómica, hemos observado que las neuronas que pertenecían al mismo grupo funcional, no mostraron ningún tipo de agrupación en el putamen, tal como muestra la Figura 25.



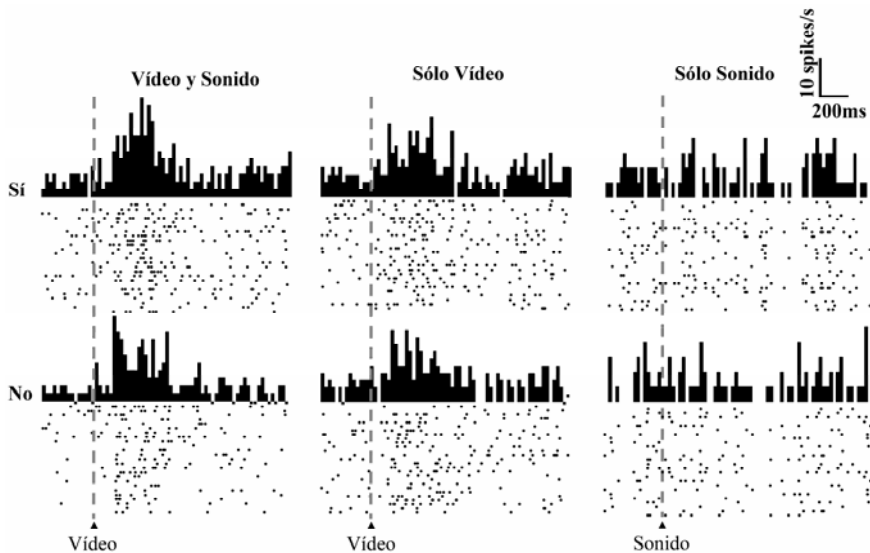
**Figura 25:** Secciones coronales del putamen mostrando una reconstrucción de los lugares de registro de las neuronas relacionadas con la tarea. Los números en la parte superior de cada sección indican su localización en mm anterior respecto al eje interaural. Visual: neuronas que modificaban su actividad basal tras la presentación del estímulo visual. Pre-acción: neuronas que modificaban su actividad basal antes del pulsado de palanca. Peri-acción: neuronas que modificaban su actividad basal alrededor del pulsado de palanca. Activación-supresión: neuronas que aumentaban su actividad basal alrededor del pulsado de palanca en los ensayos 'Sí' y la disminuían en la misma ventana temporal en los ensayos 'No'. Recompensa: neuronas que modificaban su actividad basal tras la presentación de la recompensa. N=133.

## 2.1 Actividad neuronal relacionada con el componente visual del estímulo

Un total de 17 neuronas, el 13% de las neuronas con actividad relacionada con la tarea, mostraron cambios en su actividad basal inmediatamente después de la presentación del estímulo visual. Estos cambios se observaron en las condiciones sensoriales Vídeo y Sonido y Sólo Vídeo, tanto en los ensayos ‘Sí’ como en los ensayos ‘No’. Sin embargo, no aparecieron cambios de actividad en la condición sensorial Sólo Sonido, en la que no se presentaba ningún estímulo visual (Figuras 26 y 27). El porcentaje del incremento de descarga de esta población de neuronas tras la presentación del estímulo visual con respecto a la descarga basal fue en los ensayos ‘Sí’ de 355% para la condición Vídeo y Sonido, y de 321% para la condición Sólo Vídeo, y en los ensayos ‘No’ de 340% para la condición Vídeo y Sonido, y de 344% para la condición Sólo Vídeo. No hubo diferencias significativas entre las cuatro condiciones (ANOVA,  $P > 0.05$ ). La duración media de la activación para las cuatro condiciones sensoriales fue de  $570 \pm 72$  ms (Poisson,  $P < 0.05$ ). El valor de latencia media para las cuatro condiciones fue de  $114 \pm 48$  ms (Poisson,  $P < 0.05$ ) desde la presentación del estímulo visual. No se encontraron diferencias significativas respecto a las latencias entre las condiciones Vídeo y Sonido, y Sólo Vídeo (ANOVA,  $P > 0.05$ ). El IM de la población de las neuronas visuales fue el mismo (0.99) para las condiciones sensoriales Vídeo y Sonido, y Sólo Vídeo tanto para los ensayos ‘Sí’ como para los ensayos ‘No’. Este valor de IM indica que el grado de selectividad de respuesta para el estímulo es elevado.



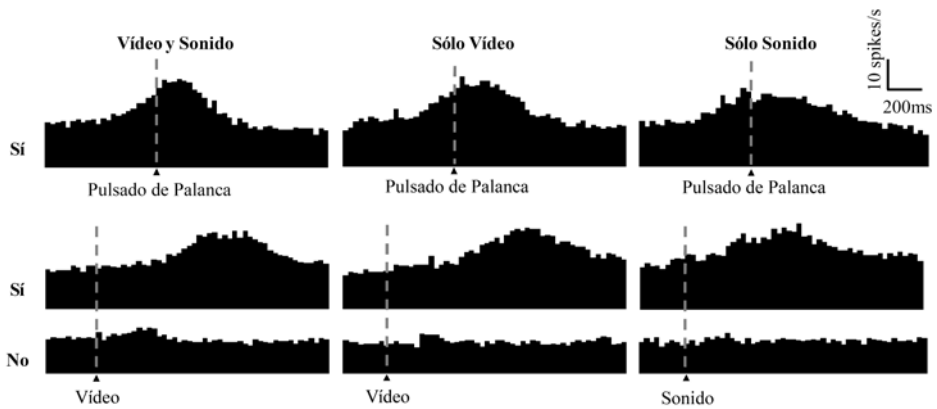
**Figura 26:** Histogramas de población de las neuronas visuales: Las neuronas relacionadas con el estímulo visual incrementan su actividad tras su presentación (condición Video y Sonido, y Sólo Video). No se hallaron cambios de actividad tras la presentación del estímulo auditivo en la condición Sólo Sonido. Los histogramas fueron sincronizados con la presentación del estímulo (aparición del video en las condiciones sensoriales Video y Sonido y Sólo Video, y aparición del sonido en la condición sensorial Sólo Sonido).  $N=11$  neuronas registradas con las tres condiciones sensoriales. Bin=20 ms.



**Figura 27:** Histogramas y rasters de una neurona visual. En los rasters que aparecen debajo de los histogramas, cada punto representa un potencial de acción que sobrepasa un umbral previo establecido en el laboratorio durante los registros, cada línea del raster representa un ensayo correcto realizado por el animal. Histogramas y rasters sincronizados con la aparición del estímulo (aparición del video en las condiciones sensoriales Video y Sonido y Sólo Video, y aparición del sonido en la condición sensorial Sólo Sonido). Bin=20 ms.

## 2.2 Actividad neuronal relacionada con la acción

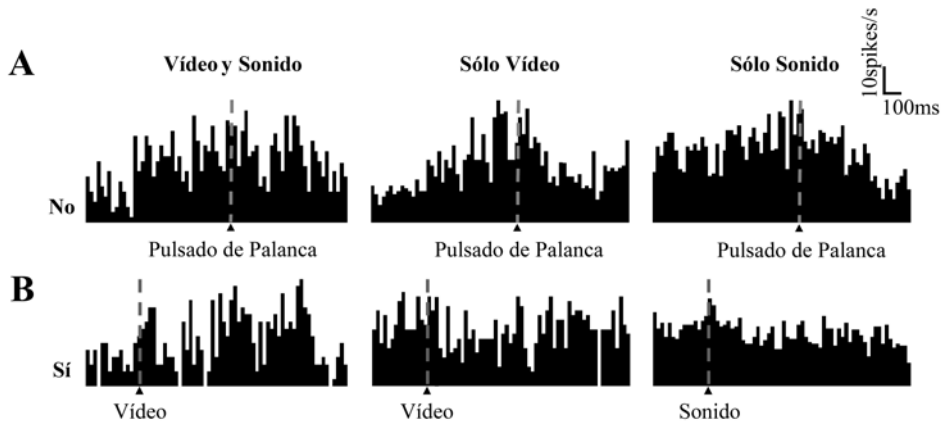
Un total de 78 neuronas, el 59% de las neuronas que presentaron actividad relacionada con la tarea, modificaban su frecuencia de descarga alrededor del pulsado de palanca (ANOVA,  $P < 0.05$ ) (Figura 28).



**Figura 28:** Histogramas de población de las neuronas relacionadas con la acción. Estas neuronas incrementan su actividad alrededor del pulsado de palanca en los ensayos 'Sí'. Arriba: Histogramas sincronizados con el pulsado de palanca para los ensayos 'Sí'. Medio: Mismos histogramas representados arriba, pero sincronizados con la presentación del estímulo para los ensayos 'Sí'. Abajo: Histogramas de las mismas neuronas representadas en las filas anteriores pero sincronizados con la presentación del estímulo para los ensayos 'No'.  $N=55$  neuronas registradas con las tres condiciones sensoriales (Video y Sonido, Sólo Video, y Sólo Sonido). Bin=20 ms.

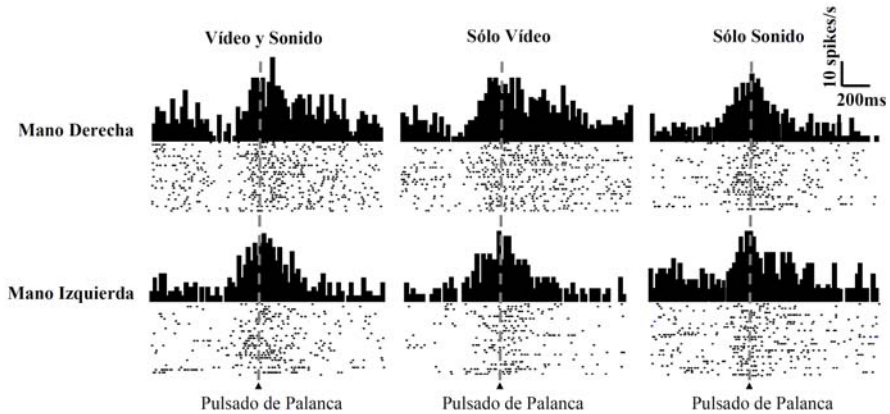
Hemos estudiado la actividad de estas neuronas durante la ejecución de dos tipos de errores: las falsas alarmas, que consisten en el pulsado de palanca en los ensayos que no requieren acto motor (ensayos 'No'), y los errores por omisión, caracterizados por el no pulsado de palanca en aquellos ensayos en los que es necesario pulsar palanca para recibir recompensa (ensayos 'Sí'). Esta población neuronal mostró un incremento significativo de actividad (ANOVA,  $P < 0.05$ ) alrededor del pulsado de palanca en las falsas alarmas, mientras que en los errores por omisión (donde los animales no pulsaban palanca) no había cambios significativos en la frecuencia de

descarga (Figura 29; ANOVA,  $P > 0.05$ ). Estos datos confirman la implicación de estas neuronas en la ejecución de un acto motor.



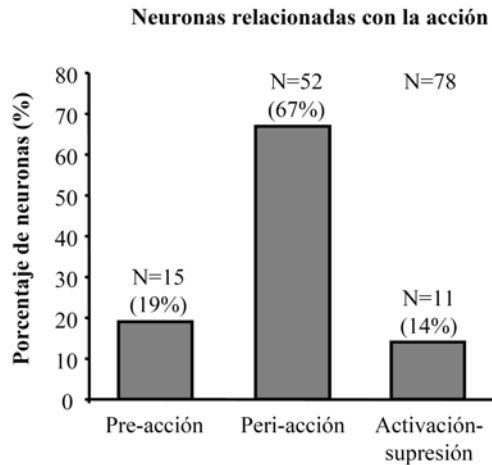
**Figura 29:** Histogramas de población de las neuronas relacionadas con la acción. La frecuencia de descarga aumenta alrededor del pulsado de palanca durante las falsas alarmas y no durante los errores por omisión. A, Histogramas sincronizados con el pulsado de palanca durante las falsas alarmas (ensayos ‘No’ en los que pulsa la palanca).  $N=43$  neuronas registradas con las tres condiciones sensoriales (Video y Sonido, Sólo Video, y Sólo Sonido). B, Histogramas sincronizados con la aparición del estímulo durante los errores por omisión (Ensayos ‘Sí’ en los que no pulsa la palanca).  $N=13$  neuronas registradas con las tres condiciones sensoriales (Video y Sonido, Sólo Video, y Sólo Sonido). Bin=20 ms.

En nuestros experimentos los animales realizaban la tarea con la mano derecha. Para comprobar la posible influencia de la mano utilizada para pulsar palanca en esta actividad neuronal, durante el registro de 9 neuronas que mostraron actividad relacionada con la acción, el animal utilizó primero la mano derecha y luego la izquierda completando las 3 condiciones sensoriales. Las neuronas se activaron en torno al pulsado de palanca en ambos casos (ANOVA,  $P < 0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas entre pulsado de palanca con la mano derecha y con la mano izquierda (ANOVA,  $P > 0.05$ ) (Figura 30).



**Figura 30:** Histogramas y rasters de una neurona relacionada con la acción. Arriba: Rasters sincronizados con el pulsado de palanca durante los ensayos 'Sí' ejecutados con la mano derecha. Abajo: Rasters sincronizados con el pulsado de palanca durante los ensayos 'Sí' ejecutados con la mano izquierda. Neurona registrada con las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido). Bin=20 ms.

Hemos podido identificar tres poblaciones de *neuronas relacionadas con la acción* en función del momento de aparición del cambio de actividad. Estas poblaciones neuronales se denominaron *neuronas pre-acción*, *peri-acción*, y *activación-supresión* (Figura 31). Sus características se describen a continuación.

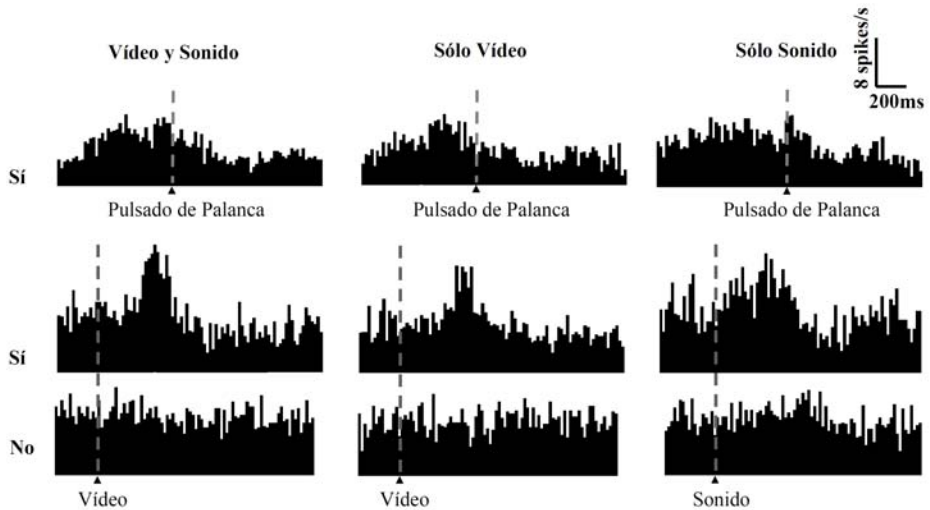


**Figura 31:** Histograma mostrando el porcentaje de los tres tipos de neuronas registrados relacionados con la ejecución de la acción.

### *Neuronas pre-acción*

De las 78 neuronas relacionadas con la acción, 15 (19%) mostraron un cambio de actividad significativo antes del pulsado de palanca (Figura 32; ANOVA,  $P < 0.05$ ). Este cambio de actividad tenía un máximo antes del pulsado de la palanca y se reducía progresivamente hasta sobrepasar este punto. Por este motivo se denominaron *neuronas pre-acción*. En los ensayos en los que no se produjo pulsado de palanca (ensayos 'No'), no se observó cambio significativo de actividad en estas neuronas. En todos los casos, el cambio consistió en un incremento de actividad. El porcentaje de este incremento en esta población neuronal antes del pulsado de palanca con respecto a la descarga basal fue de 128% para la condición Vídeo y Sonido, de 137% para la condición Sólo Vídeo, y de 130% para la condición Sólo Sonido. No se encontraron diferencias significativas entre las tres condiciones sensoriales (ANOVA,  $P > 0.05$ ). La duración media poblacional del incremento de la actividad en las tres condiciones sensoriales fue de  $423 \pm 25$  ms (Poisson,  $P < 0.05$ ). Esta población neuronal mostró un inicio de la activación a un tiempo medio de  $261 \pm 72$  ms antes del pulsado de la palanca (Poisson,  $P < 0.05$ ) para

las tres condiciones sensoriales. No se hallaron diferencias significativas para el inicio de la activación entre las tres condiciones sensoriales (Video y Sonido, Sólo Video, y Sólo Sonido; ANOVA,  $P > 0.05$ ). El IM de la población de las *neuronas pre-acción* en los ensayos 'Sí' considerando conjuntamente las tres condiciones fue de 0.94.

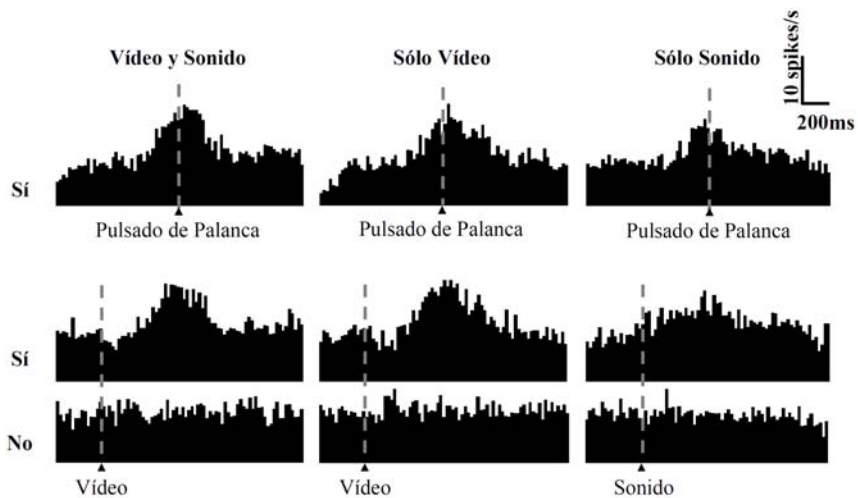


**Figura 32:** Histogramas de población de las neuronas pre-acción. Estas neuronas aumentan su actividad antes del pulsado de palanca en los ensayos 'Sí'. Arriba: Histogramas sincronizados con el pulsado de palanca para los ensayos 'Sí'. Medio: Mismos histogramas representados arriba, pero sincronizados con la presentación del estímulo para los ensayos 'Sí'. Abajo: Histogramas de las mismas neuronas representadas en las filas anteriores pero sincronizados con la presentación del estímulo para los ensayos 'No'.  $N=10$  neuronas registradas con las tres condiciones sensoriales (Video y Sonido, Sólo Video, y Sólo Sonido). Bin=20 ms.

### Neuronas peri-acción

El 67% de las neuronas relacionadas con el acto motor ( $N=52$  neuronas), se caracterizó por el incremento de su actividad antes, durante y después del pulsado de la palanca, coincidiendo su máximo con el momento del pulsado (Figura 33; ANOVA,  $P < 0.05$ ). La cuantificación de la actividad se realizó durante los 125 ms previos y posteriores al pulsado de la palanca. Estas neuronas fueron clasificadas como *neuronas*

*peri-acción*. El porcentaje del incremento de descarga de estas neuronas durante el pulsado de palanca con respecto a la descarga basal fue de 176% para la condición Vídeo y Sonido, 195% para la condición Sólo Vídeo, y de 181% para la condición Sólo Sonido. No se hallaron diferencias significativas entre las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido; ANOVA,  $P > 0.05$ ). La duración media del incremento de la actividad en las tres condiciones sensoriales fue de  $437 \pm 26$  ms. La activación de estas neuronas comenzó a un tiempo medio de  $147 \pm 74$  ms antes del pulsado de palanca, manteniéndose durante una media de  $290 \pm 20$  ms tras el pulsado de palanca (Poisson,  $P < 0.05$ ) para las tres condiciones sensoriales. No se hallaron diferencias significativas entre las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido; ANOVA,  $P > 0.05$ ). El IM de la población estas neuronas considerando conjuntamente las tres condiciones fue de 0.99 para los ensayos ‘Sí’.



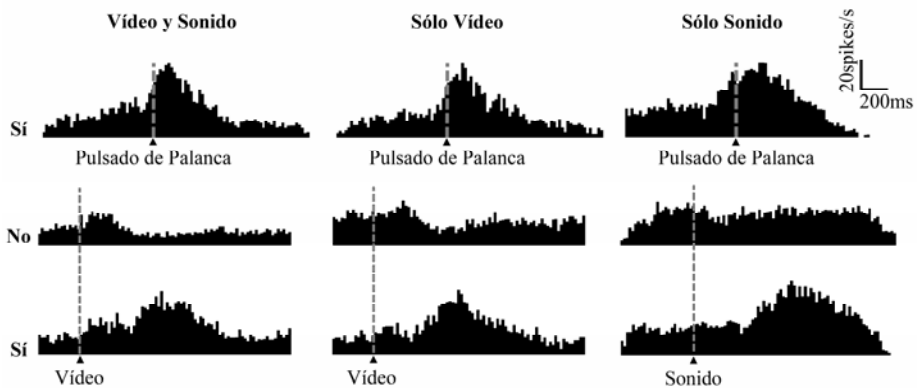
**Figura 33:** Histogramas de población de las neuronas *peri-acción*. Estas neuronas aumentaban su actividad alrededor del pulsado de palanca en los ensayos ‘Sí’. Arriba: Histogramas sincronizados con el pulsado de palanca para los ensayos ‘Sí’. Medio: Mismos histogramas representados arriba pero sincronizados con la presentación del estímulo para los ensayos ‘Sí’. Abajo: Histogramas de las mismas neuronas representadas en las filas anteriores pero sincronizados con la presentación del estímulo para los ensayos ‘No’.  $N=36$  neuronas registradas con las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido). Bin=20 ms.

*Neuronas de activación-supresión*

El 14% (n=11) de las *neuronas relacionadas con la acción* mostró un aumento de su actividad alrededor del pulsado de la palanca en los ensayos ‘Sí’ y una disminución de actividad en la misma ventana temporal en los ensayos ‘No’ (Figura 34; ANOVA,  $P < 0.05$ ). Estas neuronas fueron clasificadas como *neuronas de activación-supresión*.

El porcentaje del incremento de descarga de estas neuronas durante el pulsado de palanca con respecto a la descarga basal fue en los ensayos ‘Sí’ de 406% para la condición Vídeo y Sonido, de 444% para la condición Sólo Vídeo, y de 373% para la condición Sólo Sonido. No se hallaron diferencias significativas entre las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido; ANOVA,  $P > 0.05$ ). El porcentaje de la disminución de descarga con respecto a la descarga basal de estas neuronas para la ventana temporal correspondiente en los ensayos ‘No’ fue de 164% para la condición Vídeo y Sonido, de 183% para la condición Sólo Vídeo, y de 150% para la condición Sólo Sonido. No se hallaron diferencias significativas entre las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido; ANOVA,  $P > 0.05$ ). La duración media en las tres condiciones sensoriales del incremento de la actividad para los ensayos ‘Sí’ fue de  $453 \pm 48$  ms, y la duración media de la disminución de la actividad para los ensayos ‘No’ fue de  $563 \pm 87$  ms. La activación de estas neuronas se producía a los  $389 \pm 66$  ms antes del pulsado de la palanca manteniéndose durante una media de  $842 \pm 39$  ms tras el pulsado de palanca para las tres condiciones sensoriales en los ensayos ‘Sí’ (Poisson,  $P < 0.05$ ). No se hallaron diferencias significativas en la aparición y duración del incremento de actividad entre las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido, ANOVA,  $P > 0.05$ ). La supresión de actividad en esta población neuronal en los ensayos ‘No’ comenzaba a los  $271 \pm 29$  ms después de la presentación del estímulo visual para las condiciones Vídeo y Sonido, y Solo Vídeo, y a los  $111 \pm 43$  ms después de la presentación del estímulo auditivo para la condición Sólo Sonido (Poisson,  $P < 0.05$ ). En este caso, no se pudieron establecer

comparaciones entre estas tres condiciones sensoriales ya que no es posible sincronizar su actividad con el mismo estímulo. El IM de la población de estas neuronas para los ensayos ‘Sí’ fue de 0.99 considerando conjuntamente las tres condiciones, y para los ensayos ‘No’ fue de 0.95 para las condiciones Vídeo y Sonido, y Sólo Vídeo, y de 0.81 para la condición Sólo Sonido.

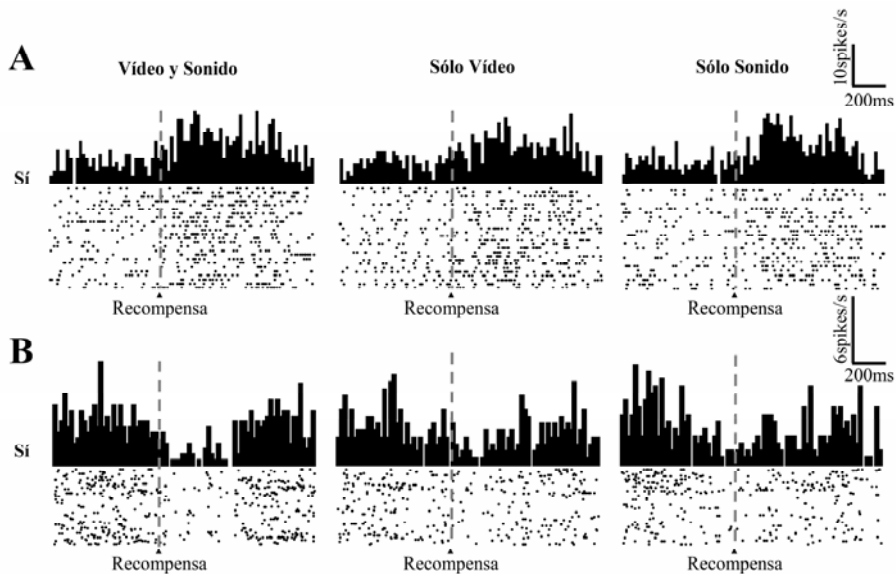


**Figura 34:** Histogramas de población de las neuronas de activación-supresión. Estas neuronas mostraron un aumento de actividad alrededor del pulsado de palanca en los ensayos ‘Sí’ y una disminución de actividad en la misma ventana temporal en los ensayos ‘No’. Arriba: Histogramas sincronizados con el pulsado de palanca para los ensayos ‘Sí’. Medio: Mismos histogramas representados arriba, pero sincronizados con la presentación del estímulo para los ensayos ‘No’. Abajo: Histogramas de las mismas neuronas representadas en las filas superiores pero sincronizados con la presentación del estímulo para los ensayos ‘Sí’.  $N=8$  neuronas registradas con las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido). Bin=20 ms.

### 2.3 Actividad neuronal relacionada con la recompensa

De las 133 relacionadas con la tarea, un total de 38 (29%) mostraron cambios en su frecuencia de descarga en relación con la obtención de la recompensa en las tres condiciones de presentación del estímulo (ANOVA,  $P < 0.05$ ). La mayor parte de estas neuronas (87%, 33 neuronas de las 38) incrementaron su frecuencia de descarga (Figuras 35A, 36A), y un 13% (5 neuronas de las 38) disminuyeron su frecuencia de descarga con respecto a la actividad basal (Figura 35B).

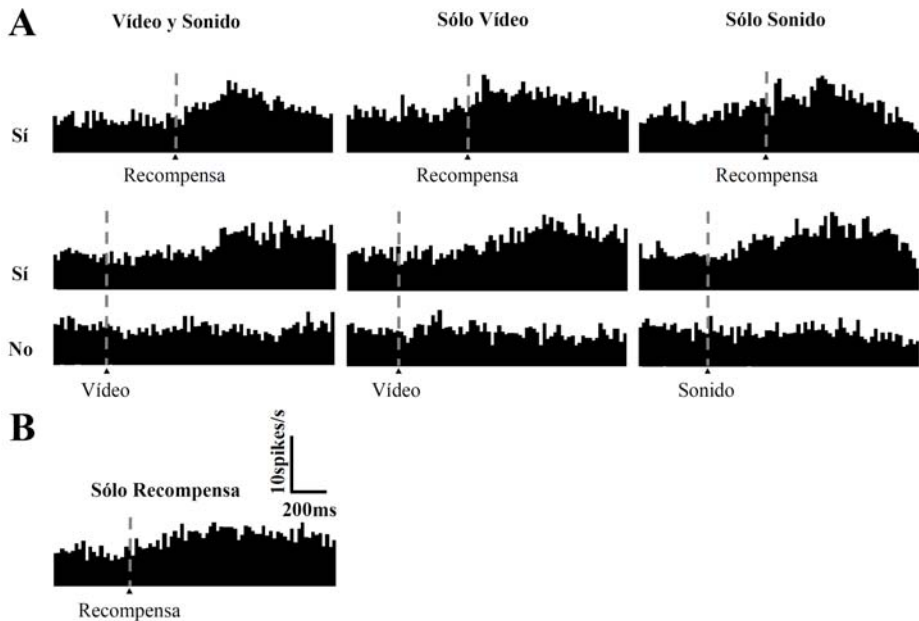
El porcentaje del incremento de descarga de estas neuronas tras la presentación de la recompensa con respecto a la descarga basal fue en los ensayos 'Sí' de 178% para la condición Vídeo y Sonido, de 167% para la condición Sólo Vídeo, y de 172% para la condición Sólo Sonido. No se hallaron diferencias significativas entre las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido; ANOVA,  $P > 0.05$ ). El porcentaje de la disminución de descarga de esta población neuronal tras la presentación de la recompensa con respecto a la descarga basal fue en los ensayos 'Sí' de 264% para la condición Vídeo y Sonido, de 250% para la condición Sólo Vídeo, y de 247% para la condición Sólo Sonido. La duración media del cambio de actividad para las tres condiciones sensoriales fue  $570 \pm 72$  ms. El cambio de actividad en las tres condiciones sensoriales tuvo una latencia media de  $183 \pm 64$  ms tras la presentación de la recompensa. No se encontraron diferencias significativas en la latencia media entre las neuronas que mostraban un aumento de actividad tras la presentación de recompensa y las que mostraron una disminución de actividad tras la presentación de recompensa (ANOVA,  $P > 0.05$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas en la latencia media entre las tres condiciones sensoriales (ANOVA,  $P > 0.05$ ). El IM de la población de las *neuronas de recompensa* que mostraron un aumento de actividad fue de 0.99 calculado conjuntamente para las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido), y el IM de la población de las *neuronas de recompensa* que mostraron una disminución de actividad fue de 0.97 calculado conjuntamente para las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido).



**Figura 35:** Histogramas y rasters de dos 'neuronas de recompensa'. A. Neurona que aumenta su actividad tras la obtención de recompensa en los ensayos 'Sí'. Histogramas y rasters sincronizados con la aparición de la recompensa para los ensayos 'Sí'. B. Neurona que disminuye su actividad tras la obtención de recompensa. Histogramas y rasters sincronizados con la aparición de la recompensa para los ensayos 'Sí'. Bin=20 ms. Neuronas registradas con las tres condiciones sensoriales (Video y Sonido, Sólo Video, y Sólo Sonido). Bin=20 ms.

En los ensayos 'No' en los que los animales no recibían recompensa no se observó ningún cambio en la actividad neuronal. En 26 de las 38 *neuronas de recompensa* se llevó a cabo un control denominado Sólo Recompensa, que consistía en la liberación de gotas de zumo sin que el animal estuviese realizando la tarea y sin presentación estimular previa (Figura 36B). Estas neuronas modificaban su actividad tras la presentación de la recompensa bajo estas condiciones (ANOVA,  $P < 0.05$ ). El porcentaje del incremento de descarga de estas neuronas tras la presentación de la recompensa con respecto a la descarga basal fue de 144%. La duración media del cambio de actividad fue 600 ms. La latencia media del comienzo del cambio de actividad de este grupo neuronal fue de  $209 \pm 108$  ms tras la presentación de la

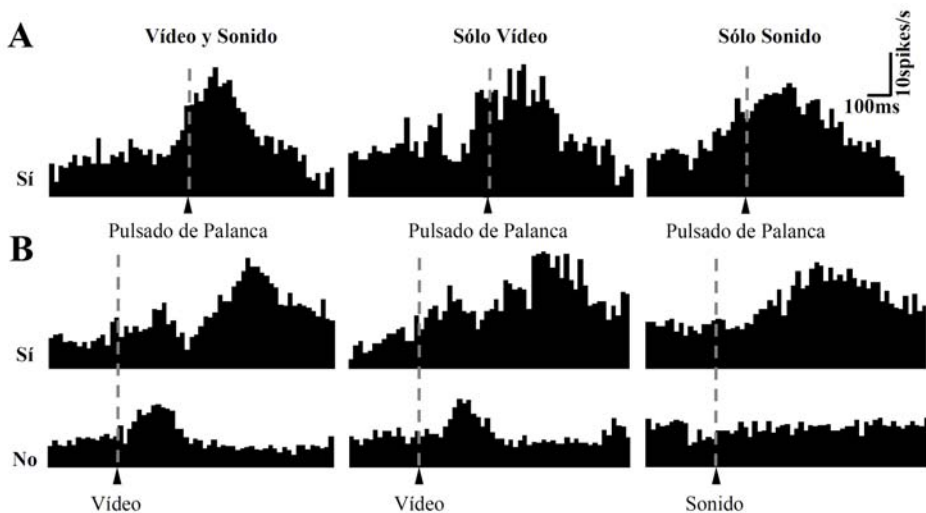
recompensa. El IM de la población de las *neuronas de recompensa* para el control Sólo Recompensa fue de 0.97.



**Figura 36:** Histogramas de población de las neuronas de recompensa. Estas neuronas mostraron un aumento de actividad tras la obtención de la recompensa en los ensayos 'Sí'. A. Arriba: Histogramas sincronizados con la presentación de la recompensa para los ensayos 'Sí'. Medio: Mismos histogramas representados arriba, pero sincronizados con la presentación del estímulo para los ensayos 'Sí'. Abajo: Histogramas de las mismas neuronas representadas en las filas anteriores pero sincronizados con la presentación del estímulo para los ensayos 'No'. Bin=20ms. N=26 neuronas registradas con las tres condiciones sensoriales (Video y Sonido, Sólo Video, y Sólo Sonido). B. Histogramas sincronizados con la presentación de la recompensa para los ensayos 'Sólo Recompensa'. N=22. Bin=20 ms.

## 2.4 Actividad neuronal relacionada con más de un evento de la tarea

Algunas de las neuronas registradas mostraron cambios de actividad relacionados con más de un tipo de estímulo. Así, ocho neuronas presentaron un aumento de la frecuencia de descarga ante la presentación del estímulo visual y alrededor del pulsado de palanca (Figura 37, ANOVA,  $P < 0.05$ ). Siete neuronas presentaron un aumento de la frecuencia de descarga bimodal, alrededor del pulsado de palanca y tras la presentación de la recompensa (ANOVA,  $P < 0.05$ ). Estas neuronas han sido incluidas dentro del grupo funcional de *neuronas relacionadas con la acción* porque su cambio de actividad más evidente estaba en relación con el pulsado de la palanca.



**Figura 37:** Histogramas de población de las neuronas que aumentan su actividad tras la presentación del estímulo visual y la ejecución del movimiento. A, Histogramas sincronizados con el pulsado de palanca para los ensayos 'Sí'. B, Histogramas sincronizados con la aparición del estímulo para los ensayos 'Sí' y los ensayos 'No'.  $N=8$  neuronas registradas con las tres condiciones sensoriales (Video y Sonido, Sólo Video, y Sólo Sonido). Bin=20 ms.

## **2.5 Actividad neuronal relacionada con la acción y tiempo de reacción**

Hemos analizado el inicio de la activación neuronal en las neuronas relacionadas con la acción considerándolas conjuntamente y de forma separada en cada animal. Para esto hemos determinado el momento del inicio de la activación en cada neurona individual y estos valores se compararon entre ambos animales (ANOVA). En el caso de las condiciones Vídeo y Sonido, y Solo Vídeo, en el animal 1 (N=13), la activación de esta población neuronal se iniciaba a los  $269 \pm 75$  ms tras la aparición del vídeo, mientras que en el animal 2 (N=32) lo hacía a los  $274 \pm 59$  ms. Estas diferencias no fueron significativas (ANOVA,  $P > 0.05$ ). Para la condición Sólo Sonido, la activación aparecía a los  $305 \pm 99$  ms tras el inicio del estímulo auditivo en el animal 1 (N=12), mientras que para el animal 2 (N=31) aparecía a los  $304 \pm 133$  ms. Estas diferencias no fueron significativas (ANOVA,  $P > 0.05$ ).



## DISCUSIÓN

---



Debido a que el putamen recibe diferentes tipos de información de varias estructuras cerebrales (DeLong, 2000; Galvan y cols. 2006), consideramos que el uso de una tarea compleja sería adecuado para poder estudiar su actividad. Por ello, se ha optado por utilizar vídeos, que proporcionan un estímulo complejo formado por varios componentes sensoriales asociados entre sí como son las imágenes de las caras moviéndose en sentido vertical y pronunciando la palabra ‘Sí’ o moviéndose en sentido horizontal y pronunciando la palabra ‘No’. Además, los vídeos representaban dos acciones habituales de la vida real: una afirmación y una negación. Creemos que la utilización de este tipo de estímulos simula una situación más natural que la utilización de estímulos abstractos.

Al ejecutar esta tarea los animales tenían que procesar información visual y auditiva, diferenciar su significado y determinar si debían ejecutar un movimiento con la finalidad de obtener una recompensa. Por ello, el uso de esta tarea nos ha permitido estudiar la actividad de las neuronas del putamen en relación con el componente visual, auditivo, motor y de recompensa contenidos en la tarea que hemos diseñado.

## **1. RESULTADOS PSICOFÍSICOS**

Tras el entrenamiento en la tarea los dos animales utilizados en el experimento mostraron un alto porcentaje de ensayos correctos, lo que indica que aprendieron a ejecutar la tarea de forma satisfactoria. Ambos animales mostraron tiempos de reacción más bajos para la condición Sólo Sonido, que para las condiciones Vídeo y Sonido, y

Sólo Vídeo. Para estas dos últimas condiciones, cada animal de forma individual mostró tiempos de reacción similares. El mayor retardo en la respuesta de ambos animales (ver Tabla 1) en los ensayos en los que se presentaba el vídeo (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo) comparado con los ensayos en los que se presentaba sólo el sonido (Sólo Sonido) probablemente se deba a que para diferenciar un ‘Sí’ de un ‘No’ en un vídeo, era necesario esperar a que apareciese el movimiento de cabeza (horizontal o vertical). Sin embargo, la discriminación de los sonidos ‘Sí’ y ‘No’ era posible desde prácticamente el inicio del sonido. En la condición Vídeo y Sonido el vídeo aparece antes que el sonido, y como consecuencia los animales respondían ante la información visual contenida en el vídeo, que aparecía primero, sin esperar a la información sonora.

Respecto a los tipos de errores cometidos durante la ejecución de la tarea, se hallaron diferencias entre los dos animales. La mayoría de los errores cometidos por el animal 1 fueron errores por omisión (no pulsar la palanca ante un ensayo ‘Sí’), mientras que para el animal 2 eran más frecuentes las falsas alarmas (pulsar palanca ante un ensayo ‘No’) (Figura 22). Ello refleja diferencias en la ejecución de la tarea entre los dos animales. Los errores por anticipación (presionar antes de tiempo) eran más frecuentes durante la condición Sólo Sonido (Figura 22). Esto puede deberse a que en las condiciones Vídeo y Sonido y Sólo Vídeo los animales deben prestar más atención desde su aparición ya que las primeras imágenes (fotogramas) del vídeo no son suficientes para discriminar entre un mensaje ‘Sí’ y un mensaje ‘No’ (tienen que discriminar la dirección del movimiento de la cabeza). Sin embargo, en la condición Sólo Sonido no hay ninguna señal que indique el comienzo del ensayo. Además, el estímulo (el sonido) aparece más tarde que el vídeo, por lo que los animales tienen que esperar más tiempo hasta la presentación de un estímulo que en la condición Sólo Vídeo. Debido a estas razones, los animales se vuelven más impacientes en la condición Sólo Sonido, lo que provoca un mayor número de errores por anticipación.

Los dos animales mostraron diferencias en los tiempos de reacción en las tres condiciones sensoriales (Vídeo y Sonido, Sólo Vídeo, y Sólo Sonido). El animal 1

pulsaba la palanca con mayor rapidez que el animal 2 (unos 50 ms antes aproximadamente, ver Tabla 1) en las condiciones Vídeo y Sonido, y Sólo Vídeo. Por el contrario, el animal 2 era más rápido que el 1 pulsando la palanca (unos 60 ms más rápido aproximadamente, ver Tabla 1) en la condición Sólo Sonido. Teniendo en cuenta estas diferencias en el tiempo de reacción, se podría esperar que hubiese diferencias en el momento de aparición del cambio de actividad entre los dos animales para las *neuronas relacionadas con la acción*. Sin embargo, no se hallaron diferencias significativas (ANOVA,  $P < 0.05$ ) en el inicio de la activación neuronal entre ambos animales. Estos datos muestran que en ambos animales se iniciaba la actividad neuronal al mismo tiempo, pero el acto motor se produjo en diferentes momentos. Esto puede significar que la información relacionada con los estímulos visual y auditivo alcanza el putamen con una latencia similar en ambos animales, pero el procesamiento del acto motor tiene diferente duración para cada animal.

## 2. ACTIVIDAD NEURONAL

Tras analizar la actividad neuronal hemos encontrado tres poblaciones neuronales en función del evento de la tarea que modula su actividad: las *neuronas visuales*, que se activan tras la presentación del vídeo, las *neuronas relacionadas con la acción*, que se activan alrededor del pulsado de palanca, y las *neuronas de recompensa*, que se activan tras la presentación de la recompensa (Figura 24). Todos los grupos neuronales descritos presentaban un IM alto, lo que indica que estas neuronas poseen un significativo grado de selectividad respecto al evento con el que están relacionadas.

## 2.1 Neuronas visuales

Las neuronas que hemos denominado *neuronas visuales* mostraban cambios en su actividad relacionados con el componente visual de la tarea. Estos cambios aparecían inmediatamente después de la aparición del vídeo tanto en los ensayos ‘Sí’ como en los ensayos ‘No’ (Figura 26), lo cual sugiere que están relacionados con el procesamiento de estímulos visuales y no con la actividad motora o la presentación de recompensa. Esto también se refleja en la latencia de estas neuronas (Figura 23), que es similar a las descritas por otros autores en el putamen u otras estructuras como el caudado (Hikosaka y cols., 1989a; Kimura, 1992; Romero y cols., 2008). Un trabajo anterior de nuestro grupo de investigación ya describió neuronas del putamen y del caudado que se activaban tras la presentación de un estímulo visual en los ensayos sin actividad motora ni aparición de recompensa (Romero y cols., 2008).

Varios estudios han mostrado neuronas del putamen que cambian su actividad tras la presentación de estímulos que predicen la aparición de la recompensa (Aosaki y cols., 1994; Kimura y cols. 1984). Sin embargo, en el presente estudio la actividad neuronal se incrementa tras la presentación del estímulo visual para los ensayos ‘Sí’, y también para los ensayos ‘No’ (que no son recompensados). Además, en la condición Sólo Sonido, en la que era necesario pulsar palanca para obtener recompensa, las *neuronas visuales* no modificaban su actividad, lo cual demuestra que no estaban relacionadas con la ejecución motora ni con la aparición del estímulo auditivo o de la recompensa.

El perfil de respuesta de las *neuronas visuales* estudiadas en el presente trabajo sugiere que están relacionadas con el procesamiento de información visual pura. Otros autores ya han descrito actividad neuronal relacionada con estímulos visuales en el putamen (Kimura, 1992) y en el caudado (Hikosaka y cols., 1989a, 1898b) en monos rhesus. Además, Nagy y cols. (2003, 2008) describieron esta actividad visual en otros núcleos pertenecientes a los GB como la sustancia negra y el núcleo del caudado en

gatos. Sin embargo, en los anteriores trabajos la actividad neuronal relacionada con estímulos visuales también estaba modulada por la ejecución de una acción (Kimura, 1992). Otros autores encontraron actividad visual pero no pudieron demostrar con claridad si estaba o no modulada por la recompensa (Hikosaka, 1989a, 1989b, Nagy y cols., 2003, 2008). En nuestros experimentos queda demostrado que la actividad relacionada con el componente visual de la tarea no está modulada por la ejecución motora o por la obtención de recompensa. Es posible que la actividad de estas *neuronas visuales* sea una señal que indique al putamen que se ha producido un evento relevante que puede requerir la realización o no de un movimiento. Sin embargo, esta información visual puede no ser suficiente para decidir si se debe o no realizar este movimiento. De hecho, estas neuronas se activan en la misma forma durante los ensayos ‘Sí’ que requieren movimiento que en los ensayos ‘No’ que no requieren movimiento. La orden para realizar o no realizar el movimiento probablemente provenga de la corteza prefrontal, área cortical de la que el putamen recibe conexiones (Nakano y cols., 2000; Parent y Hazrati, 1995), y está relacionada con la toma de decisiones (Genovesio y cols., 2011; Watanabe y Funahashi, 2007).

La información visual que nosotros hemos encontrado probablemente llegue al putamen proveniente de los colículos superiores a través del tálamo (McHaffie y cols., 2005; Redgrave y cols., 2010), y de la corteza, de la que recibe conexiones directas (Bolam y cols., 2009, Middleton y Strick, 1996, Seger, 2007). Kimura (1992) registró en primates neuronas del putamen que se activaban ante la presentación de estímulos visuales. Estas neuronas se agrupaban en dos poblaciones en función de su perfil de activación. Una población mostraba una alta activación ante los estímulos visuales que indicaban al animal que debía realizar un movimiento para obtener recompensa y una baja activación ante los estímulos visuales que indicaban que no debía realizar ningún movimiento. Estos datos sugieren que esta población de neuronas del putamen procesa tanto la información visual como la información relacionada con la recompensa. La otra población neuronal mostraba la misma actividad ante los dos tipos de estímulos visuales, lo que significa que esta población de neuronas únicamente procesa la

información visual. Igualmente Graziano y Gross (1993) describieron actividad visual en el putamen de primates y Schulz y cols. (2009) en el estriado de ratas.

## 2.2 Neuronas relacionadas con la acción

Las *neuronas relacionadas con la acción* se activaban alrededor del pulsado de palanca. El cambio de actividad en estas neuronas ocurre después del de las *neuronas visuales* y antes del de las *neuronas de recompensa*, dato que apoya la distinción de las tres poblaciones neuronales mostradas en la Figura 23.

La actividad de las *neuronas relacionadas con la acción* durante las falsas alarmas y los errores por omisión demuestran su implicación en el acto del pulsado de la palanca (Figura 29). Así, cuando el animal pulsa palanca ante un ensayo ‘No’ (falsa alarma) la actividad neuronal aparece alrededor de la palanca, mientras que cuando no pulsa palanca ante un ensayo ‘Sí’ (error por omisión) no se hallaron cambios de la actividad basal.

La actividad motora hallada en el putamen puede ser el resultado de las conexiones de los GB con la corteza motora. De hecho, algunos autores han descrito activación de la corteza motora que precedía a la activación del estriado, formado por putamen y caudado (Crutcher y Alexander, 1990; Fuji y Graybiel, 2005). Estos resultados apoyan la existencia de un procesamiento secuencial de la información motora. En primer lugar se activa la corteza motora, que envía información a los GB, quienes posteriormente procesan esta información y la envían de nuevo a la corteza a través del tálamo y al tronco encefálico. A través de las tres vías de los GB (directa, indirecta e hiperdirecta) la actividad de los núcleos de salida de los GB (el GPi y la SNr), que reciben conexiones del putamen (Bolam y cols., 2000; Marchand, 2010), influye en la actividad cortical a través del tálamo. Cuando los núcleos de salida de los GB son inhibidos mediante la vía directa aumenta la actividad cortical dando lugar a

una activación motora. Cuando los núcleos de salida de los GB son activados mediante la vía indirecta o hiperdirecta disminuye la actividad cortical provocando una inhibición motora. Estas tres vías de los GB son las encargadas de ejecutar los movimientos requeridos por el entorno (vía directa) y de suprimir los movimientos inadecuados e innecesarios (vía indirecta e hiperdirecta).

Nagy y cols. (2006) estudiaron neuronas del colículo superior que no mostraban cambios de actividad durante los movimientos realizados por el animal para pulsar un botón, en cambio se activaban durante la fase de pulsado. Estas neuronas fueron clasificadas como motoras-somatosensoriales, ya que su actividad estaba relacionada con el contacto de la mano con el botón pulsado, y no con el movimiento llevado a cabo para pulsar el botón. En nuestros experimentos el animal mantenía la mano sobre la palanca durante todos los ensayos, pero sólo la pulsaba en los ensayos ‘Sí’. Por ello, podemos afirmar que las neuronas relacionadas con el acto motor no están moduladas por el componente somatosensorial del contacto con la palanca, si no que lo están por el pulsado de palanca.

Las *neuronas relacionadas con la acción* las hemos clasificado en tres grupos, en función del momento y del modo en que se activan alrededor del pulsado de la palanca. Estos tres grupos, *pre-acción*, *peri-acción* y de *activación-supresión*, podrían tener diferentes funciones en la ejecución del movimiento.

Neuronas pre-acción. Este grupo de neuronas se activaba antes del pulsado de palanca por lo que fueron clasificadas como *neuronas pre-acción* (Figura 32). La latencia de estas neuronas y la ausencia de actividad en los ensayos en los que no se requería pulsado de palanca (ensayos ‘No’) sugieren que su actividad está relacionada con el inicio o con la programación del movimiento. Es posible que las *neuronas pre-acción* procesen información motora relacionada con la preparación de un acto motor para obtener recompensa. Varios estudios han descrito este tipo de actividad en los GB. Por ejemplo, Romo y cols. (1992) registraron neuronas en el estriado de primates que se activaban antes de la ejecución de un movimiento. Asimismo, un estudio reciente en

primates (Deffains y cols., 2010) describió neuronas en el putamen que presentaban cambios en su descarga basal antes de los movimientos realizados para tocar una pantalla tras la presentación de varios estímulos.

Neuronas peri-acción. Un segundo grupo de neuronas aumentaba su actividad antes del pulsado de palanca y esta actividad se mantenía durante y tras el pulsado de palanca. Estas neuronas fueron clasificadas como *neuronas peri-acción* (Figura 33). Su perfil de activación sugiere que están relacionadas de forma directa con la ejecución del movimiento. Varios autores han hallado neuronas del putamen mostrando cambios de actividad durante la realización de un movimiento (Deffains y cols., 2010; Filatova y cols. 2005; Ueda y Kimura, 2003). Estos hallazgos confirman el papel que el putamen juega en la ejecución de actos motores.

Neuronas activación-supresión. El último grupo de *neuronas relacionadas con la acción* modificaba su actividad alrededor del pulsado de la palanca pero, a diferencia de las anteriores, aumentaban su actividad en los ensayos ‘Sí’ (en los que se pulsaba palanca) y disminuían su actividad durante la misma ventana temporal en los ensayos ‘No’ (en los que no se realizaba el pulsado de la palanca) (Figura 34). Este perfil de actividad sugiere que estas neuronas están relacionadas con la ejecución de movimiento en los ensayos ‘Sí’ y con la ‘omisión’ del movimiento en los ensayos en los que no se lleva a cabo ningún acto motor (ensayos ‘No’).

De los tres subgrupos descritos, quizás el último sea el más interesante. Durante los experimentos hemos monitorizado la mano del animal y, como ya se ha dicho, hemos comprobado que el animal la mantenía sobre la palanca tanto en los ensayos ‘Sí’ como en los ensayos ‘No’, pero no hemos observado ningún tipo de movimiento de la mano o el brazo durante los ensayos ‘No’. Los cambios de actividad encontrados en las *neuronas de activación-supresión* tanto en los ensayos ‘Sí’ como en los ensayos ‘No’ pueden deberse a la automatización del movimiento. Algunos estudios han demostrado que cuando un animal aprende a ejecutar correctamente una tarea

operante, los movimientos se automatizan con el tiempo dando lugar a cambios en la actividad neuronal (Barnes y cols. 2005; Tang y cols. 2007). Asimismo se ha propuesto que las conexiones entre los GB y la corteza prefrontal son responsables de la adquisición de movimientos automáticos (Middleton y Strick, 2002; Draganski y cols., 2008), hallazgos que apoyan la relación del putamen con la ejecución de movimientos automáticos. Otra posibilidad es que la disminución de actividad neuronal durante los ensayos ‘No’ podría estar relacionada con la supresión del movimiento. El incremento de actividad de las neuronas de este grupo estaría entonces relacionada con el movimiento de pulsado, mientras que la supresión de su actividad reflejaría el efecto de alguna aferencia inhibitoria relacionada con la supresión activa del acto motor. Algunas estructuras del cerebro envían conexiones al putamen para cancelar o modular la actividad motora. De hecho la corteza frontal inferior del hemisferio derecho ha sido relacionada con la inhibición de una respuesta iniciada en la corteza (Aron y cols., 2004). Esta área cortical puede inhibir los planes motores a través de sus conexiones con los GB. En apoyo de esta hipótesis está el hecho de que algunos autores han descrito neuronas del estriado que se activan durante ensayos que requieren inhibición de movimiento (Apicella y cols., 1992; Schultz y Romo, 1992; Romero y cols. 2008). Finalmente, otros autores (Lee y Assad, 2003; Lee y cols., 2006) defienden que la actividad neuronal en ausencia de movimientos puede indicar que el movimiento ha sido suprimido correctamente. Por ello, según estos autores esta actividad no estaría relacionada directamente con la ejecución motora.

El papel del putamen en la supresión de movimiento puede tener especial relevancia en el conocimiento de trastornos motores como la enfermedad del Parkinson. Esta alteración de los GB se caracteriza por una disminución de los movimientos voluntarios y un incremento de los movimientos involuntarios. Los estudios sobre el mecanismo encargado de suprimir movimientos de forma voluntaria pueden ayudar a avanzar en la etiología de este tipo de desórdenes motores.

Estas neuronas clasificadas como *activación-supresión* presentan un perfil de activación que, al menos que nosotros conozcamos, no ha sido descrito por otros autores: la misma neurona aumenta su actividad durante los ensayos motores y disminuye su actividad durante los ensayos no motores. Aunque nosotros aquí sugerimos algunas ideas sobre el papel que pueden jugar en la realización de movimientos, se necesitan experimentos adicionales para establecer una conclusión más clara sobre su función.

### 2.3 Neuronas de recompensa

El tercer grupo de neuronas que hemos encontrado en el putamen modificaban su actividad tras la presentación de la recompensa, por lo que fueron clasificadas como *neuronas de recompensa* (Figura 36).

Varios estudios han demostrado que la actividad del putamen está modulada no sólo por la presentación de la recompensa (Apicella y cols., 1997; Ravel y cols., 2003), sino también por los estímulos que predicen la presentación de la recompensa (Aosaki y cols., 1994; Kimura y cols., 1984). En este último caso, las neuronas responden a la expectativa de futuras recompensas. En el presente trabajo no encontramos este tipo de actividad neuronal debido probablemente al diseño del experimento. En nuestra tarea los animales recibían la recompensa inmediatamente después del pulsado de palanca por lo que no era posible la aparición de la expectación de recompensa.

En los ensayos que hemos realizado para determinar la influencia real de la recompensa, el animal recibía una recompensa sin realizar la tarea y sin tener ningún tipo de estímulo previo o posterior a recibirla. De esta forma hemos constatado que las *neuronas de recompensa* presentaban la misma activación ante la presentación de recompensa en los ensayos realizados durante la tarea normal que cuando se le daba una gota de zumo sin realizar la tarea y sin presentación de ningún tipo de estímulo (Figura

36B). Esto indica que el putamen procesa información directamente relacionada con la recompensa independientemente de la realización de la tarea. También hemos comprobado que durante la realización de la tarea los animales realizaban movimientos bucales similares a los realizados cuando obtenía recompensa, pero en estos casos no hemos observado que se produjesen cambios en la actividad neuronal.

Las neuronas implicadas en el procesamiento de estímulos visuales y de recompensa estudiadas en este trabajo apoyan la hipótesis de que los GB procesan información sobre los eventos de nuestro entorno que son relevantes (Blazquez y cols., 2002; Lee y cols., 2006; Yamada y cols., 2004). Las neuronas del putamen que reciben información sobre estos eventos podrían modular los circuitos entre la corteza y los GB para ajustar los movimientos y producir la acción más apropiada al contexto.

#### **2.4 Neuronas con respuestas a varios eventos**

La mayor parte de las neuronas que hemos registrado estaban moduladas por un único tipo de estímulo, sin embargo un pequeño número de neuronas mostraron cambios de actividad ante diferentes tipos de estímulos sensoriales. En ocho neuronas la actividad estaba modulada por el estímulo visual y por el movimiento, mientras que en otras siete neuronas hemos observado modulación de su actividad por el movimiento y la presentación de la recompensa. Ello indica que algunas neuronas del putamen procesan diferentes tipos de información de forma simultánea y posiblemente la integren para generar señales motoras. En apoyo a estos resultados, otros autores también han encontrado neuronas que se activaban simultáneamente ante diferentes condiciones sensoriales. Por ejemplo, Pasquereau y cols. (2007) estudiaron neuronas del estriado moduladas por la dirección del movimiento de la mano sobre la palanca, y la probabilidad de recompensa. También Kimura (1992) estudió en primates neuronas del putamen que mostraban actividad relacionada con estímulos visuales y con la ejecución de un movimiento. El hecho de que una misma neurona del putamen procese diferentes

tipos de información sugiere que este núcleo procesa información sobre varios eventos relevantes para el animal. Parte de esta información la podría recibir a través de conexiones de diferentes áreas de la corteza (McFarland y Haber, 2000; Nakano y cols., 2000).

## 2.5 Neuronas fásicas y neuronas tónicas en el putamen

La actividad del putamen se ha clasificado en fásica y tónica en función de varios criterios, como ya se ha explicado en el Apartado 2.2.1 de la Introducción. En función de la descarga basal, las *neuronas visuales* registradas en el presente trabajo podrían ser clasificadas como fásicas (PANs) ya que presentaban una descarga basal baja (entre 0.3 y 2 spikes/s). Por otro lado, las *neuronas relacionadas con la acción* y las *neuronas de recompensa* podrían ser clasificadas como tónicas (TANs) debido a su mayor descarga basal (entre 2.1 y 8 spikes/s). Sin embargo, estos resultados no son completamente coherentes con otras observaciones descritas en la literatura. Según varios autores, las neuronas PANs están relacionadas con la actividad motora, mientras que las TANs están relacionadas con el procesamiento de estímulos, como la recompensa o las señales que predicen ésta (Ravel y cols., 2001, 2003; Deffains y cols., 2010). Aunque nuestros resultados concuerdan con los ya publicados en el caso de las *neuronas de recompensa*, discrepan con los publicados en relación con las *neuronas visuales* y con las *neuronas relacionadas con la acción*. Sin embargo, otros autores, como Lee y cols. (2006), encontraron neuronas relacionadas con el movimiento clasificadas como TANs, lo que coincide con nuestras observaciones. Además, esta actividad se observó en ausencia de estímulos sensoriales, por lo que no estaba relacionada con el procesamiento de información sensorial. Estos hallazgos sugieren que las diferencias funcionales entre neuronas PANs y TANs no están todavía claramente establecidas.

## 2.6 Otros aspectos estudiados

A pesar de haber encontrado actividad neuronal relacionada con el procesamiento de estímulos visuales no hemos encontrado neuronas que respondiesen a estímulos auditivos. De hecho, en la condición Sólo Sonido las neuronas no modificaban su descarga basal tras la presentación del sonido en ninguno de los dos tipos de ensayos (ensayos ‘Sí’ y ensayos ‘No’). Algunos autores han descrito neuronas en el putamen que procesan información auditiva. Por ejemplo, esta actividad auditiva fue descrita por Kimura (1992) en el putamen de primates, por Chudler y cols. (1995) en el putamen de ratas, por Hikosaka y cols. (1989a) en el caudado de primates, y por Nagy y cols. (2005, 2006) en la sustancia negra y el caudado de gatos. El putamen recibe información del lóbulo temporal donde se encuentra la corteza auditiva. Exactamente estas conexiones llegan al estriado asociativo, formado por el putamen rostral a la comisura anterior y la mayor parte del caudado, excepto la zona próxima a la cápsula interna (Parent y Hazrati, 1995). A pesar de que en nuestros experimentos hemos registrado neuronas del estriado asociativo, no hemos encontrado respuestas auditivas. Ello podría deberse a que los estímulos auditivos utilizados en nuestros experimentos no son los adecuados para activar a las neuronas auditivas del putamen. También pudo haber ocurrido que, a pesar de que según nuestros cálculos hemos realizado registros en zonas en las que otros autores encontraron respuestas auditivas, nosotros no hayamos encontrado este tipo de neuronas. El estudio de Kimura (1992) utiliza el sonido producido por la válvula del solenoide como estímulo auditivo seguido de recompensa, por lo que la actividad neuronal que aparece tras este sonido podría estar modulada por la obtención de recompensa y no por la presentación del sonido.

En cuanto a la lateralización en los GB, en nuestro estudio el uso de la mano derecha o de la mano izquierda para ejecutar la tarea no influyó en el perfil de activación de las neuronas motoras (Figura 30). Varios trabajos han demostrado que los GB, a diferencia de la corteza motora, se activan bilateralmente durante la ejecución de movimientos unilaterales (Gerardin y cols., 2003; Scholz y cols., 2000). En nuestro

trabajo se registraron neuronas del hemisferio izquierdo mientras el animal ejecutaba un movimiento con la mano derecha. Sin embargo en algunos ensayos hemos dejado que el animal realizase la tarea también con la mano izquierda. El hecho de que la actividad neuronal fuera la misma para estos dos tipos de ensayos indica que el putamen está involucrado en la actividad motora ipsi y contralateral. De hecho, mediante estudios anatómicos se ha demostrado que el putamen recibe información bilateral de la corteza motora (Flaherty y Graybiel, 1993; Takada y cols., 1998).

Nuestras observaciones sugieren que las neuronas del putamen procesan información variada. Hemos hallado actividad relacionada con los estímulos visuales, con el acto motor y con la recompensa. Ello indica que el putamen es un núcleo que recibe y procesa información compleja relacionada con la ejecución de movimientos orientados a la obtención de una recompensa. De hecho, el putamen recibe un gran número de conexiones de la corteza a través de las cuales le llega información de múltiples modalidades. También posee un complejo sistema de conexiones con otros núcleos de los GB, lo que indica la existencia de intercambio de información entre ellos. Además, la información procesada en el putamen posiblemente sea utilizada por otras estructuras para ajustar el movimiento a los requerimientos del entorno, para de esta forma poder alcanzar los objetivos propuestos.

## CONCLUSIONES

---



## CONCLUSIONES

1. En el putamen hay neuronas que se activan tras la aparición de estímulos visuales, tanto si están relacionados o no con la ejecución del movimiento o con la aparición de recompensa, sugiriendo que este núcleo procesa información visual.
2. En el putamen hay neuronas que se activan antes y durante la ejecución de una acción motora, lo que sugiere que estas neuronas podrían estar involucradas tanto en la planificación como en la ejecución del movimiento.
3. Algunas neuronas del putamen aumentan su actividad durante la ejecución de un movimiento y disminuyen su actividad cuando no se requiere este mismo movimiento, sugiriendo un posible papel de este núcleo en la automatización o en la supresión del movimiento.
4. En el putamen hay neuronas que modifican su actividad tras la aparición de recompensa, tanto si es predecible como si no. Esta observación sugiere que estas neuronas procesan información relacionada con la recompensa en sí misma, y no con la expectativa de recompensa.



## CONCLUSIONS

1. We found some putamen neurons that were activated by the visual stimulus onset, regardless whether or not it was related to the movement or to the reward. This suggests that this nucleus processes visual information.
2. We found putamen neurons that were activated before and during the lever pressing, suggesting their role in both planning and movement execution.
3. Some putamen neurons increased their activity during lever pressing and decreased their activity when this movement was not executed. This suggests a role of the putamen in movement automaticity or in movement withholding.
4. There are neurons in the putamen that modify their activity after reward delivery, either predictable or not. This finding suggests that these neurons process information related to the reward itself and not to reward expectation.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---



- Afanas'ev SV, Tolkunov BF, Rogatskaya NB, Orlov AA, Filatova EV (2004). Sequential rearrangements of the ensemble activity of putamen neurons in the monkey brain as a correlate of continuous behavior. *Neurosci Behav Physiol*, 34:251-258.
- Aosaki T, Tsubokawa H, Ishida A, Watanabe K, Graybiel AM, Kimura M (1994). Responses of tonically active neurons in the primate's striatum undergo systematic changes during behavioral sensorimotor conditioning. *J Neurosci*, 14:3969-3984.
- Apicella P, Scarnati E, Ljungberg T, Schultz W. (1992). Neuronal activity in monkey striatum related to the expectation of predictable environmental events. *J Neurophysiol*, 68:945-960.
- Apicella P, Legallet E, Trouche E (1997). Responses of tonically discharging neurons in the monkey striatum to primary rewards delivered during different behavioral states. *Exp Brain Res*, 116:456-466.
- Apicella P (2002). Tonically active neurons in the primate striatum and their role in the processing of information about motivationally relevant events. *Eur J Neurosci*, 16:2017-2026.
- Aron, AR, Robbins, TW, Poldrack, RA (2004). Inhibition and the right inferior frontal cortex. *Trends Cogn Sci*, 8:170-177.
- Aron AR, Poldrack RA (2006). Cortical and subcortical contributions to Stop signal response inhibition: role of the subthalamic nucleus. *J Neurosci*, 26:2424-2433.
- Barnes TD, Kubota Y, Hu D, Jin DZ, Graybiel AM (2005). Activity of striatal neurons reflects dynamic encoding and recoding of procedural memories. *Nature*, 437:1158-1161.
- Bisley, JW, Krishna, BS & Goldberg, ME (2004). A rapid and precise on response in posterior parietal cortex. *J Neurosci*, 24:1833-1838.
- Blazquez PM, Fujii N, Kojima J, Graybiel AM (2002). A network representation of response probability in the striatum. *Neuron*, 33:973-982.
- Bolam JP, Hanley JJ, Booth PA, Bevan MD (2000). Synaptic organisation of the basal ganglia. *J Anat*, 196:527-542.

- Bolam JP, Brown MTC, Magill PJ (2009). Basal ganglia: internal organization. *Encyclopedia of Neuroscience*, 2:97-104.
- Bosboom JL, Stoffers D, Wolters ECh (2004). Cognitive dysfunction and dementia in Parkinson's disease. *J Neural Transm*, 111:1303-1315.
- Bostan AC, Dum RP, Strick PL (2010). The basal ganglia communicate with the cerebellum. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107:8452-8456.
- Brown LL, Schneider JS, Lidsky TI (1997): Sensory and cognitive functions of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol*, 7:157-7163.
- Chudler EH, Sugiyama K, Dong WK (1995). Multisensory convergence and integration in the neostriatum and globus pallidus of the rat. *Brain Res*, 674:33-45.
- Coizet V, Graham JH, Moss J, Bolam JP, Savasta M, McHaffie JG, Redgrave P, Overton PG (2009). Short-latency visual input to the subthalamic nucleus is provided by the midbrain superior colliculus. *J Neurosci*, 29:5701-5709.
- Cromwell HC, Schultz W (2003). Effects of expectations for different reward magnitudes on neuronal activity in primate striatum. *J Neurophysiol*, 89:2823-2838.
- Cromwell HC, Hassani OK, Schultz W (2005). Relative reward processing in primate striatum. *Exp Brain Res*, 162:520-525.
- Crutcher MD, Alexander GE (1990). Movement-related neuronal activity selectively coding either direction or muscle pattern in three motor areas of the monkey. *J Neurophysiol*, 64:151-163.
- Crutcher MD, DeLong MR (1984). Single cell studies of the primate putamen. II. Relations to direction of movement and pattern of muscular activity. *Exp Brain Res*, 53:244-258.
- Deffains M, Legallet E, Apicella P (2010). Modulation of neuronal activity in the monkey putamen associated with changes in the habitual order of sequential movements. *J Neurophysiol*, 104:1355-1369.
- DeLong MR (2000). The Basal Ganglia. En Kandel ER, Schwartz, JH, Jessell TM. *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill, 853-72.
- DeLong MR, Wichmann T (2007). Circuits and circuit disorders of the basal ganglia.

- Arch Neurol, 64:20-24.
- Draganski B, Kherif F, Klöppel S, Cook PA, Alexander DC, Parker GJ, Deichmann R, Ashburner J, Frackowiak, RS (2008). Evidence for segregated and integrative connectivity patterns in the human Basal Ganglia. *J Neurosci*, 28:7143-7152.
- Drago V, Foster PS, Okun MS, Haq I, Sudhyadhom A, Skidmore FM, Heilman KM (2009). Artistic creativity and DBS: a case report. *J Neurol Sci*, 276:138-142.
- Durand JB, Zhu S, Celebrini S, Trotter Y (2002). Neurons in parafoveal areas V1 and V2 encode vertical and horizontal disparities. *J Neurophysiol*, 88:2874-2879.
- Filatova EV, Orlov AA, Tolkunov BF, Afanas'ev SV (2004). The differentiating activity of monkey putamen neurons during performance of alternative spatial selection. *Neurosci Behav Physiol*, 34:243-249.
- Filatova EV, Orlov AA, Tolkunov BF, Afanas'ev SV (2005). Neuron activity in the monkey striatum identifies integration sequential actions into functional blocks. *Neurosci Behav Physiol*, 35:943-949.
- Flaherty AW, Graybiel AM (1993). Two input systems for body representations in the primate striatal matrix: experimental evidence in the squirrel monkey. *J Neurosci*, 13:1120-1137.
- Fujii N, Graybiel AM (2005). Time-varying covariance of neural activities recorded in striatum and frontal cortex as monkeys perform sequential-saccade tasks. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102:9032-9037.
- Galvan A, Kuwajima M, Smith Y (2006). Glutamate and GABA receptors and transporters in the basal ganglia: what does their subsynaptic localization reveal about their function? *Neuroscience*, 143:351-375.
- Genovesio A, Tsujimoto S, Wise SP (2011). Prefrontal cortex activity during the discrimination of relative distance. *J Neurosci*, 31:3968-3980.
- Georgopoulos AP, DeLong MR, Crutcher MD (1983). Relations between parameters of step-tracking movements and single cell discharge in the globus pallidus and subthalamic nucleus of the behaving monkey. *J Neurosci*, 3:1586-1598.

- Gerardin E, Lehericy S, Pochon JB, Tézenas du Montcel S, Mangin JF, Poupon F, Agid Y, Le Bihan D, Marsault C (2003). Foot, hand, face and eye representation in the human striatum. *Cereb Cortex*, 13:162-169.
- Girotti F, Soliveri P. (2003): Cognitive and behavioral disturbances in Parkinson's disease. *Neurol Sci*, 24 Suppl 1:S30-31.
- Gonzalez F, Krause F, Perez R, Alonso JM, Acuña C. (1993): Binocular matching in monkey visual cortex: single cell responses to correlated and uncorrelated dynamic random dot stereograms. *Neuroscience*, 52:933-939.
- Gonzalez & Krause (1994). Generation of dynamic random-element stereograms in real time with a system based on a personal computer. *Med Biol Eng Comput*, 32:373-376.
- Gonzalez-F, Alonso-JM, Relova-JL, Perez-R (1996). Receptive field asymmetries and sensitivity to random dot stereograms. *Arch Ital Biol*, 134:169-184.
- Gonzalez-F, Perez-R, Justo-MS, Bermudez-MA (2001). Response latencies to visual stimulation and disparity sensitivity in single cells of the awake *Macaca mulatta* visual cortex. *Neurosci Lett*, 299:41-44.
- Graziano MS, Gross CG (1993). A bimodal map of space: somatosensory receptive fields in the macaque putamen with corresponding visual receptive fields. *Exp Brain Res*, 97:96-109.
- Hadj-Bouziane F, Boussaoud D (2003). Neuronal activity in the monkey striatum during conditional visuomotor learning. *Exp Brain Res*, 153:190-196.
- Hikosaka O, Sakamoto M, Usui S (1989a). Functional properties of monkey caudate neurons. II. Visual and auditory responses. *J Neurophysiol*, 61:799-813.
- Hikosaka O, Sakamoto M, Usui S (1989b). Functional properties of monkey caudate neurons. III. Activities related to expectation of target and reward. *J Neurophysiol*, 61:814-832.
- Hoshi E, Tremblay L, Féger J, Carras PL, Strick PL (2005). The cerebellum communicates with the basal ganglia. *Nat Neurosci*, 8:1491-1493.

- Jaeger D, Gilman S, Aldridge JW (1995). Neuronal activity in the striatum and pallidum of primates related to the execution of externally cued reaching movements. *Brain Res*, 694:111-127.
- Kimura M, Rajkowski J, Evarts E (1984). Tonicly discharging putamen neurons exhibit set-dependent responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81:4998-5001.
- Kimura M (1992). Behavioral modulation of sensory responses of primate putamen neurons. *Brain Res*, 578:204-214.
- Kimura M, Kato M, Shimazaki H, Watanabe K, Matsumoto N (1996). Neural information transferred from the putamen to the globus pallidus during learned movement in the monkey. *J Neurophysiol*, 76:3771-3786
- Lee IH, Assad JA (2003). Putaminal activity for simple reactions or self-timed movements. *J Neurophysiol*, 89:2528-2537.
- Lee IH, Seitz AR, Assad JA (2006). Activity of tonically active neurons in the monkey putamen during initiation and withholding of movement. *J Neurophysiol*, 95:2391-2403.
- McFarland NR, Haber SN (2000). Convergent inputs from thalamic motor nuclei and frontal cortical areas to the dorsal striatum in the primate. *J Neurosci*, 20:3798-3813.
- Marchand WR (2010). Cortico-basal ganglia circuitry: a review of key research and implications for functional connectivity studies of mood and anxiety disorders. *Brain Struct Funct*, 215:73-96.
- Maunsell JH, Gibson JR (1992). Visual response latencies in striate cortex of the macaque monkey. *J Neurophysiol*, 68:1332-1344.
- McHaffie JG, Stanford TR, Stein BE, Coizet V, Redgrave P (2005). Subcortical loops through the basal ganglia. *Trends Neurosci.*, 28:401-407.
- Middleton FA, Strick PL (1996). The temporal lobe is a target of output from the basal ganglia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:8683-8687.
- Middleton FA, Strick PL (2002). Basal-ganglia 'projections' to the prefrontal cortex of the primate. *Cereb Cortex*, 12:926-935.

- Nagy A, Eördegh G, Norita M, Benedek G (2003). Visual receptive field properties of neurons in the caudate nucleus. *Eur J Neurosci*, 18:449-452.
- Nagy A, Paróczy Z, Norita M, Benedek G (2005). Multisensory responses and receptive field properties of neurons in the substantia nigra and in the caudate nucleus. *Eur J Neurosci*, 22:419-424.
- Nagy A, Kruse W, Rottmann S, Dannenberg S, Hoffmann KP (2006). Somatosensory-motor neuronal activity in the superior colliculus of the primate. *Neuron*, 52:525-534.
- Nagy A, Paróczy Z, Márkus Z, Berényi A, Wypych M, Waleszczyk WJ, Benedek G (2008). Drifting grating stimulation reveals particular activation properties of visual neurons in the caudate nucleus. *Eur J Neurosci*, 27:1801-1808.
- Nakano K, Kayahara T, Tsutsumi T, Ushiro H (2000). Neural circuits and functional organization of the striatum. *J Neurol*, 247 Suppl 5:V1-15.
- Nambu A, Tokuno H, Takada M (2002). Functional significance of the cortico-subthalamo-pallidal 'hyperdirect' pathway. *Neurosci Res*, 43:111-117.
- Nambu A (2011). Somatotopic organization of the primate basal ganglia. *Front Neuroanat*, 5:1-9.
- Parent A, Hazrati LN (1995). Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Brain Res Rev*, 20:91-127.
- Pasquereau B, Nadjar A, Arkadir D, Bezdard E, Goillandeau M, Bioulac B, Gross CE, Boraud T (2007). Shaping of motor responses by incentive values through the basal ganglia. *J Neurosci*, 27:1176-1183.
- Pasupathy A, Miller EK. (2005). Different time courses of learning-related activity in the prefrontal cortex and striatum. *Nature*, 433:873-876.
- Paxinos G, Huang X, Petrides M, Toga AW (2000). *The Rhesus Monkey Brain in Stereotaxic Coordinates*. Estados Unidos: Academic Press.
- Penfield, W. (1950). *The Cerebral cortex of man: a clinical study of localization of function*. New York: The McMillan Co.

- Poggio GF, Gonzalez F, Krause F (1988). Stereoscopic mechanisms in monkey visual cortex: binocular correlation and disparity selectivity. *J Neurosci*, 8: 4531-4550.
- Prince SJ, Pointon AD, Cumming GB, Parker AJ (2002). Quantitative analysis of the responses of V1 neurons to horizontal disparity in dynamic random-dot stereograms. *J Neurophysiol*, 87:191-208.
- Ravel S, Sardo P, Legallet E, Apicella P (2001). Reward unpredictability inside and outside of a task context as a determinant of the responses of tonically active neurons in the monkey striatum. *J Neurosci*, 21:5730-5739.
- Ravel S, Legallet E, Apicella P (2003). Responses of tonically active neurons in the monkey striatum discriminate between motivationally opposing stimuli. *J Neurosci*, 23:8489-8497.
- Ravel S, Sardo P, Legallet E, Apicella P (2006). Influence of spatial information on responses of tonically active neurons in the monkey striatum. *J Neurophysiol*, 95:2975-2986.
- Raskin SA, Woods SP, Poquette AJ, McTaggart AB, Sethna J, Williams RC, Tröster AI (2011). A differential deficit in time- versus event-based prospective memory in Parkinson's disease. *Neuropsychol*, 25:201-209.
- Redgrave P, Coizet V, Comoli E, McHaffie JG, Leriche M, Vautrelle N, Hayes LM, Overton P. (2010). Interactions between the Midbrain Superior Colliculus and the Basal Ganglia. *Front Neuroanat*, 4:1-8.
- Ring HA, Serra-Mestres J. (2002). Neuropsychiatry of the basal ganglia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 72:12-21.
- Romanelli P, Esposito V, Schaal DW, Heit G (2005). Somatotopy in the basal ganglia: experimental and clinical evidence for segregated sensorimotor channels. *Brain Res Brain Res Rev*, 48:112-128.
- Romero MC, Castro AF, Bermudez MA, Perez R, Gonzalez F (2007). Eye dominance and response latency in area V1 of the monkey. *Vis Neurosci*, 24:757-761.

- Romero, MC, Bermudez MA, Vicente AF, Perez R, and Gonzalez F (2008). Response activity profiles of neurons in the caudate and putamen during a visuomotor task. *Neuroreport*, 19:1141-1145.
- Romo R, Scarnati E, Schultz W (1992). Role of primate basal ganglia and frontal cortex in the internal generation of movements. II. Movement-related activity in the anterior striatum. *Exp Brain Res*, 91:385-395.
- Scholz VH, Flaherty AW, Kraft E, Keltner JR, Kwong KK, Chen YI, Rosen BR, Jenkins BG (2000). Laterality, somatotopy and reproducibility of the basal ganglia and motor cortex during motor tasks. *Brain Res*, 879:204-215
- Schultz W, Romo R (1992). Role of primate basal ganglia and frontal cortex in the internal generation of movements. I. Preparatory activity in the anterior striatum. *Exp Brain Res*, 91:363-384.
- Schulz JM, Redgrave P, Mehring C, Aertsen A, Clements KM, Wickens JR, Reynolds JN (2009). Short-latency activation of striatal spiny neurons via subcortical visual pathways. *J Neurosci*, 29:6336-6347.
- Seger CA (2007). How do the basal ganglia contribute to categorization? Their roles in generalization, response selection, and learning via feedback. *Neurosci Biobehav Rev*, 32:265-278.
- Shidara M, Aigner TG, Richmond BJ (1998). Neuronal signals in the monkey ventral striatum related to progress through a predictable series of trials. *J Neurosci*, 18:2613-2625.
- Skeel RL, Crosson B, Nadeau SE, Algina J, Bauer RM, Fennell EB (2001). Basal ganglia dysfunction, working memory, and sentence comprehension in patients with Parkinson's disease. *Neuropsychol*, 39:962-971.
- Takada M, Tokuno H, Nambu A, Inase M (1998). Corticostriatal input zones from the supplementary motor area overlap those from the contra- rather than ipsilateral primary motor cortex. *Brain Res*, 791:335-340.
- Tang C, Pawlak AP, Prokopenko V, West MO (2007). Changes in activity of the striatum during formation of a motor habit. *Eur J Neurosci*, 25:1212-1227.

- Tang CC, Root DH, Duke DC, Zhu Y, Teixeira K, Ma S, Barker DJ, West MO (2009). Decreased firing of striatal neurons related to licking during acquisition and overtraining of a licking task. *J Neurosci*, 29:13952-13961.
- Tobler PN, Dickinson A, Schultz W (2003). Coding of predicted reward omission by dopamine neurons in a conditioned inhibition paradigm. *J Neurosci*, 23:10402-10410.
- Tremblay L, Hollerman JR, Schultz W (1998). Modifications of reward expectation-related neuronal activity during learning in primate striatum. *J Neurophysiol*, 80:964-977.
- Ueda Y, Kimura M (2003). Encoding of direction and combination of movements by primate putamen neurons. *Eur J Neurosci*, 18:980-994.
- Utter AA, Basso MA (2008). The basal ganglia: an overview of circuits and function. *Neurosci Biobehav Rev*, 32:333-342.
- Watanabe K, Funahashi S (2007). Prefrontal delay-period activity reflects the decision process of a saccade direction during a free-choice ODR task. *Cereb Cortex*, 17:i88-100.
- Wilson CJ, Chang HT, Kitai ST (1990). Firing patterns and synaptic potentials of identified giant aspiny interneurons in the rat neostriatum. *J Neurosci*, 10:508-519
- Yamada H, Matsumoto N, Kimura M (2004). Tonicly active neurons in the primate caudate nucleus and putamen differentially encode instructed motivational outcomes of action. *J Neurosci*, 24:3500-3510.
- Zgaljardic DJ, Foldi NS, Borod JC (2004). Cognitive and behavioral dysfunction in Parkinson's disease: neurochemical and clinicopathological contributions. *J Neural Transm*, 111:1287-1301.