

TRABAJO DE FIN DE GRADO EN PSICOLOGÍA

CURSO 2023/2024

CONVOCATORIA JUNIO



**UNA VÍA DE INHIBICIÓN CORTICOESTRIATAL: IMPLICACIÓN DE LAS
INTERNEURONAS CORTICALES PV Y SOM**



Autor: Marta Navarro Bernad

Tutor: Daniel Lloret Irles **Cotutor:**

Ramón Reig Garcia **COIR:**

TFG.GPS.DLI.MNB.240520

Elche, a 30 de mayo de 2024

Índice

Resumen.....	3
1. Introducción.....	4
1.1. Sistema Nervioso Central.....	4
1.2. Ganglios Basales.....	4
1.2.1. Estriado.....	6
1.3. Corteza cerebral: tipos neuronales.....	9
1.3.1. Interneuronas PV.....	9
1.3.2. Interneuronas SOM.....	10
1.4. Sistema sensoriomotor.....	10
1.5. Circuito corticoestriatal.....	13
1.6. Hipótesis y objetivos.....	14
2. Materiales y métodos.....	14
2.1. Procedimiento ético.....	14
2.2. Animales de experimentación.....	14
2.3. Preparación de las muestras.....	15
2.4. Inmunohistoquímica.....	16
2.5. Obtención y procesamiento de imágenes.....	17
2.6. Análisis de datos.....	17
3. Resultados.....	17
3.1. Proyecciones de interneuronas SOM.....	18
3.2. Proyecciones de interneuronas PV.....	19
4. Discusión.....	22
5. Conclusión.....	24
6. Bibliografía.....	25
7. Anexos.....	34

Resumen

El estriado es la principal estructura de entrada de información hacia los ganglios basales, un conjunto de núcleos subcorticales involucrados en funciones motoras, cognitivas, emocionales y motivacionales, cuya disfunción está implicada en una gran variedad de trastornos neurológicos y psiquiátricos. Las interneuronas corticales GABAérgicas son la principal fuente de neurotransmisión inhibitoria de la corteza cerebral y a pesar de que tradicionalmente se creía que solo enviaban sus axones de forma local, recientemente se ha descubierto su implicación en vías inhibitorias de largo alcance. Más concretamente, recientemente se ha demostrado que existen dos tipos de interneuronas GABAérgicas, parvalbúmina (PV) y somatostatina (SOM), que conectan la corteza con el estriado, pero la información sobre estas conexiones es todavía escasa. El objetivo de este trabajo es estudiar la implicación de las interneuronas PV y SOM de áreas corticales pertenecientes al sistema sensoriomotor en las vías inhibitorias del circuito corticoestriatal, para comprender los mecanismos subyacentes a la actividad funcional y disfuncional de los ganglios basales. Mediante un estudio anatómico demostramos la presencia de interneuronas GABAérgicas de largo alcance PV y SOM en el área sensorial primaria (S1) e interneuronas PV en el área motora primaria (M1) involucradas en la vía inhibitoria del circuito corticoestriatal.

Palabras clave: *corticoestriatal, interneuronas, GABA, parvalbúmina, somatostatina*

1. INTRODUCCIÓN

1.1. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El sistema nervioso central está compuesto por el encéfalo y la médula espinal. El encéfalo, a su vez, está formado por el cerebelo, el tronco encefálico y el cerebro; este último involucrado en la generación de respuestas, sensaciones, movimiento, emociones y en la comunicación, procesamiento y memorización de la información (Thau et al., 2022).

La corteza cerebral recibe y procesa información sensorial y está involucrada en la actividad motora, además de cumplir un importante papel en las funciones cognitivas superiores; pero la modulación de esta información y la respuesta consecuente es llevada a cabo a través de estructuras subcorticales, como pueden ser los ganglios basales (Haines y Mihailoff, 2018).

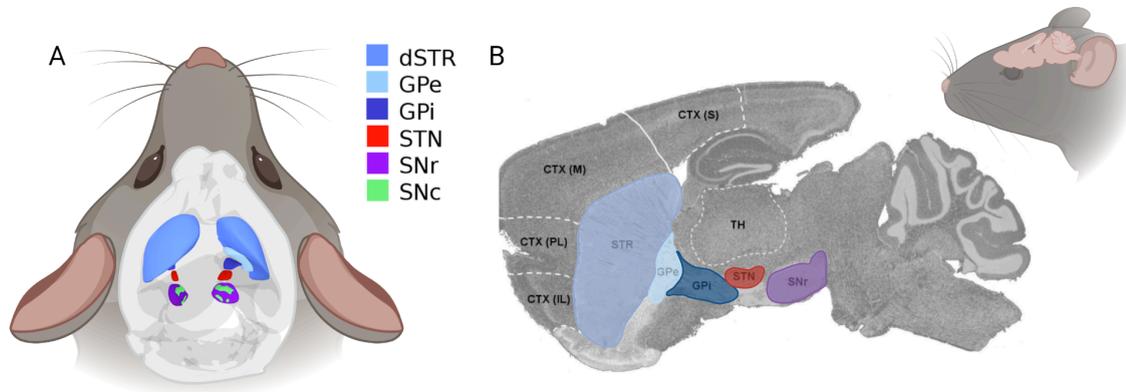
1.2. GANGLIOS BASALES

Los ganglios basales son un conjunto de núcleos subcorticales altamente interconectados que están involucrados en una gran cantidad de funciones entre las que se encuentran el control, aprendizaje y selección de secuencias motoras, la formación de hábitos, la motivación por la recompensa, la cognición, la toma de decisiones y el control emocional (Lanciego et al., 2012; Young et al., 2023; Yin y Knowlton, 2006).

En cuanto a su estructura, como se muestra en la Figura 1, están compuestos por el estriado (*STR*), el segmento externo e interno del globo pálido (GPe y GPi respectivamente), el núcleo subtalámico (*STN*), y la sustancia negra (SN), la cual está dividida en pars compacta (SNc) y pars reticulata (SNr) (Steiner y Tseng, 2016).

Figura 1

Los ganglios basales en ratón



Nota. (A) Representación esquemática de la visión dorsal de los ganglios basales en ratón. Adaptado de humanbrainproject.eu, por Grillner et al., (s.f). (B) Esquema de la visión sagital de los ganglios basales en ratón. Creado con biorender.com.

Los núcleos que conforman los ganglios basales, además de interactuar intrínsecamente, también establecen comunicaciones aferentes y eferentes con otras estructuras cerebrales, desempeñando un papel fundamental en la integración de información sensoriomotora, asociativa y límbica.

Consecuentemente, un mal funcionamiento de los ganglios basales está asociado a deterioros de diversa índole, entre los que se encuentran trastornos psiquiátricos y neurológicos, que a menudo pueden ser comórbidos.

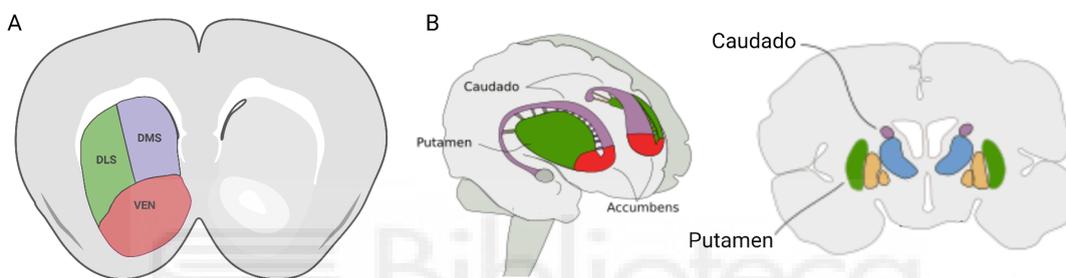
Históricamente, los ganglios basales han sido mayormente estudiados en relación a funciones motoras y de recompensa; y su asociación con trastornos motores como la Enfermedad de Parkinson, la Enfermedad de Huntington o las conductas adictivas. En las últimas décadas se ha demostrado que también desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de condiciones psiquiátricas como el Trastorno del Espectro Autista, Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad, Trastorno por Depresión Mayor, Ansiedad Generalizada y la Esquizofrenia, entre otras (Macpherson y Hikida, 2019; Proal et al., 2013).

1.2.1. ESTRIADO

El estriado es el principal núcleo de recepción de información aferente de los ganglios basales (Gaybriel y Grafton, 2015). En el cerebro humano, el estriado está subdividido en tres estructuras conocidas como núcleo caudado, putamen y accumbens y estudios en ratón han sugerido que el estriado dorsomedial (*DMS*), dorsolateral (*DLS*) y ventral (*VEN*) podrían actuar como regiones homólogas (Basile et al., 2021).

Figura 2

Las regiones del estriado de ratón y su homología humana



Nota. (A) Representación esquemática de la división dorsomedial (*DMS*), dorsolateral (*DLS*) y ventral (*VEN*) del estriado en cerebro de ratón. Creado con biorender.com.

(B) Representación esquemática de las regiones del estriado en los ganglios basales del cerebro humano (izquierda) y visión de una sección coronal a la derecha. Adaptado de “Órganos animales. Sistema nervioso central. Subpalio”, por Megías et al., (s.f.). *Atlas de Histología Vegetal y Animal*.

El estriado recibe proyecciones desde la corteza, el tálamo y el tronco encefálico. Las proyecciones corticales están organizadas de manera topográfica, de forma que *DLS* recibe mayormente de proyecciones de áreas sensoriomotoras, *DMS* de áreas de asociación y *VEN* de áreas límbicas (Rocha et al., 2023; Haber, 2016). Las diferentes regiones del estriado *DLS*, *DMS* y *VEN* han sido relacionadas con funciones sensoriomotoras, cognitivas y de recompensa, respectivamente (Haber, 2016).

En la vía indirecta, las *MSNs* mandan proyecciones inhibitorias al Gpe, que desinhibe al NST. Cuando este se desinhibe, excita a las neuronas de los núcleos eferentes (SNr y Gpi) que inhiben al tálamo. La inhibición talámica provoca que las proyecciones excitatorias talamocorticales disminuyan su disparo, suprimiendo movimientos no deseados (Calabresi et al., 2014).

Por último, la vía hiperdirecta está formada por una conexión axonal monosináptica excitatoria que va desde la corteza cerebral hasta el NST. Mediante esta vía se generan fuertes respuestas excitatorias de corta duración en las neuronas del NST que excitan a las neuronas del Gpi y SNr, sirviendo así de apoyo a la vía indirecta (Hasegawa et al., 2022).

Dentro del estriado podemos encontrar diferentes tipos neuronales; las neuronas de proyección GABAérgicas, llamadas neuronas espinosas medianas o *medium spiny neurons* (*MSNs*) que conforman alrededor del 95% de la población neuronal del estriado y las interneuronas, que representan el 5% de las células estriatales restantes (Del Rey et al., 2022; Graveland y Difiglia, 1985).

Las *MSNs* pueden dividirse en dos subgrupos, las *MSNs* que expresan el receptor de dopamina (DA) del tipo D1, involucradas en la vía directa y las *MSNs* que expresan el receptor de DA del tipo D2, involucradas en la vía indirecta (Gagnon et al., 2017). También y dependiendo de la región del estriado se ha descrito un tipo mixto de *MSNs*, que expresan ambos receptores, D1/D2, representando un porcentaje muy bajo (3-5%) en el *DLS* (Thibault et al., 2013; Geldwert et al., 2006).

Las interneuronas estriatales modulan la actividad de las *MSNs* y pueden dividirse en dos grandes subgrupos: las interneuronas excitatorias colinérgicas y las interneuronas inhibitorias GABAérgicas (Steiner y Tseng, 2016). Dentro de las interneuronas GABAérgicas podemos encontrar las que contienen calretinina (CR), parvalbúmina (PV), somatostatina (SOM), neuropéptido Y (NPY) y la enzima sintasa del óxido nítrico neuronal (NOS) (Kawaguchi et al., 1995). El impacto que estas interneuronas tienen en la actividad de los microcircuitos del estriado sigue siendo objeto de estudio.

1.3. CORTEZA CEREBRAL: TIPOS NEURONALES

La corteza cerebral tiene un papel esencial en la percepción, control motor y funciones cognitivas superiores. En los mamíferos, está organizada en seis capas apiladas que contienen microcircuitos corticales, dinámicos y altamente conectados, compuestos por dos tipos de neuronas: las neuronas piramidales y las interneuronas (Tremblay et al., 2016; Tjia et al., 2017; Miyashita, 2022).

Las neuronas piramidales representan entre el 70-85% de todas las neuronas de la corteza y son el principal tipo de neurona excitatoria, comunicándose con otras regiones corticales y subcorticales mediante proyecciones axonales glutamatérgicas de larga distancia (Wang et al., 2018; Tjia et al., 2017).

Las interneuronas GABAérgicas representan entre el 15% y 30% de la población neuronal del circuito cortical (Tsodyks et al., 1997) y, aunque tienen morfología diversa, en su mayoría suelen tener axones relativamente cortos que proyectan de forma local y se encargan, por tanto, de la inhibición cortical local (Adnani et al., 2018). Estas interneuronas desempeñan un papel esencial en la regulación de la comunicación neuronal relacionada con un adecuado procesamiento de la información y funcionamiento cerebral.

Hay más de 20 tipos diferentes de interneuronas en la corteza que pueden ser clasificadas en base a sus propiedades anatómicas, moleculares/genéticas y fisiológicas (Nahar et al., 2021).

Dentro de las interneuronas GABAérgicas encontramos cinco grandes subgrupos: parvalbúmina (PV), somatostatina (SOM), neuropéptido Y (NPY), Péptido vasoactivo intestinal (VIP) y Calretinina (CR) (Adnani et al., 2018); aunque los dos tipos más comunes de interneuronas son las que expresan PV y SOM (Muñoz-Manchado et al., 2018).

1.3.1. INTERNEURONAS PV

Las interneuronas PV son un tipo de neurona inhibitoria caracterizada por su expresión de la proteína de unión al calcio parvalbúmina y por su capacidad para transmitir rápidamente señales eléctricas y químicas controlando de esta forma la actividad de la red neuronal de manera muy precisa.

Existen varios tipos de interneuronas PV; las propiedades electrofisiológicas de las *PV-FSI* se caracterizan por una baja resistencia de entrada, una rápida hiperpolarización post-acción de

alta amplitud, un fenotipo que hace que puedan disparar potenciales de acción rápidos (Nahar et al., 2021), lo que les otorga su nombre *fast-spiking interneurons* o interneuronas de disparo rápido (*PV-FSI*).

Estas hacen sinapsis en el cuerpo celular o soma de la mayoría de neuronas piramidales próximas, lo que hace que su papel sea fundamental en la coordinación de la activación oscilatoria sincrónica de estas a través de la inhibición de la retroalimentación (Hu et al., 2010), regulando así el balance excitación-inhibición de la neurotransmisión cerebral.

1.3.2. INTERNEURONAS SOM

Las interneuronas SOM son un tipo de interneurona inhibitoria que expresa la hormona peptídica somatostatina y se caracterizan por tener un disparo regular de bajo umbral y una alta actividad espontánea (Liguz-Leczna et al., 2022).

Estas neuronas, a diferencia de las PV, hacen sinapsis con las dendritas de las células piramidales, lo que les otorga un papel importante en la integración y plasticidad sináptica de estas (Liguz-Leczna et al., 2022). En estudios previos se ha demostrado que cuando las interneuronas SOM se silencian con optogenética, aumenta la actividad y la frecuencia de disparo de las neuronas piramidales (Fino et al., 2013), lo que corrobora la importancia de estas en la regulación del equilibrio activación-inhibición de la red neuronal y su papel como mediadoras de la integración de información conductual relevante (Liguz-Leczna et al., 2022).

1.4. SISTEMA SENSORIOMOTOR

Los organismos reciben información del medio a través de sus sentidos e interaccionan en base a sus capacidades, o lo que es igual; todos sus comportamientos y conductas dependen fundamentalmente de sus interacciones motoras con la información sensorial recibida (Harnad, 2017). El sistema sensoriomotor es el encargado de recibir estímulos tanto interoceptivos como exteroceptivos y generar una respuesta mediante el movimiento.

Este sistema es extremadamente complejo y está altamente involucrado en el control motor a través de relaciones complementarias entre componentes estáticos y dinámicos (Riemann y Lephart, 2002).

Cortezas motoras: M1 desempeña un papel fundamental en el control de los movimientos voluntarios y es la estructura cerebral clave para la adquisición y ejecución de movimientos que requieren habilidades. (Moini y Piran, 2020; Kleim, 2009). La corteza motora secundaria (M2) proyecta a M1 y desempeña un importante papel en la integración de estímulos contextuales, en especial de señales sensoriales, para el control de acciones motoras planificadas (Olson et al., 2020).

Cortezas somatosensoriales: S1 recibe información de los sentidos somáticos, propioceptivos y viscerales y responde fundamentalmente a información externa, pero también tiene un importante papel en la activación antes de los movimientos planificados, reflejando su conexión con las áreas de planificación motora. (Bruurmijn et al., 2017). Es más, en el caso específico de los roedores, se ha descrito que S1 también actúa como el área encargada de controlar el movimiento de retracción de los bigotes o vibrisas (Hubatz et al., 2020). La corteza somatosensorial secundaria (S2) está involucrada en el procesamiento sensorial y la integración de la información multisensorial, desempeñando funciones como la percepción táctil, la percepción del dolor y la modulación de la atención a estímulos sensoriales relevantes. Además, S2 participa en la integración de información espacial y la coordinación de movimientos, facilitando comportamientos adaptativos y complejos (Taub et al., 2024; Santiago et al., 2019; Condylis et al., 2020).

Cortezas premotoras: Las áreas premotoras en los primates desempeñan roles esenciales en la planificación, coordinación y ejecución de movimientos. Estas áreas son responsables de integrar señales sensoriales y motoras, facilitando la ejecución de secuencias de movimientos complejas y adaptativas. Además, tienen una función crucial en la reorganización neuronal durante el aprendizaje sensoriomotor (Ebina et al., 2023; Nakajima et al., 2022). Sin embargo, la identificación y la caracterización detallada de estas áreas premotoras y sus funciones no están tan claramente definidas en modelos murinos.

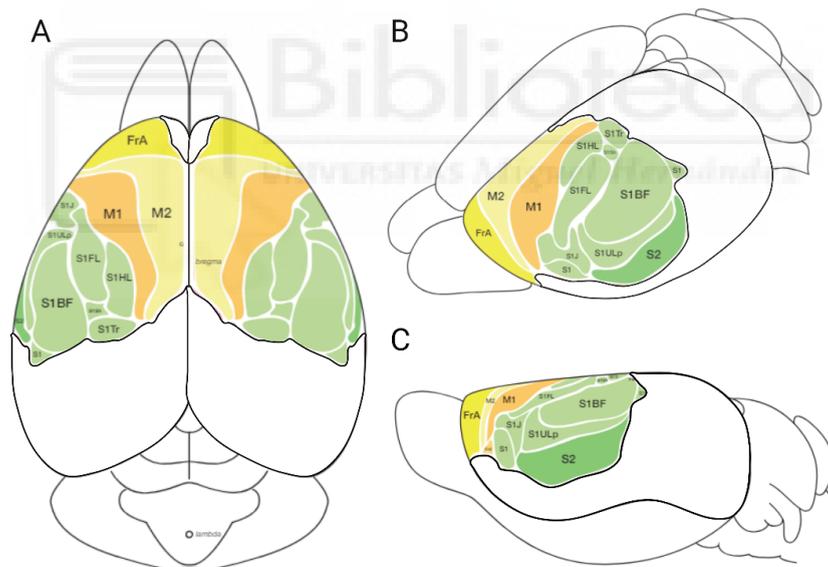
En el ratón, el área de asociación frontal (FrA) está localizada en la corteza prefrontal, pero estudios recientes han demostrado que tiene un papel significativo en la planificación y ejecución de movimientos, características propias de áreas premotoras (Purves et al., 2001). La principal función de FrA es recibir e integrar grandes cantidades de información procedente de otras áreas corticales y transmitirla a diferentes zonas corticales, como M1, para generar comportamiento (Purves et al., 2001).

En un estudio previo llevado a cabo por el grupo del Dr. Reig (Alegre-Cortés et al., 2021) se expone la fuerte relación entre la actividad del área de asociación frontal (FrA) y la actividad del estriado dorsolateral, que como se ha mencionado anteriormente, es la región del estriado que recibe principalmente las proyecciones de áreas corticales sensoriomotoras. Esta alta conectividad funcional se puede explicar por los axones de neuronas piramidales proyectando al *DLS*, como sugieren otros estudios (Smith et al., 2016).

Por tanto, FrA se puede considerar funcionalmente como una región premotora más que como una típica región prefrontal y es muy probable que, además de las áreas corticales sensoriomotoras M1, M2, S1 y S2, también FrA esté estrechamente relacionada con el sistema sensoriomotor.

Figura 4

Áreas sensoriomotoras



Nota. Esquema de las áreas sensoriomotoras del cerebro de ratón. (A) Visión perpendicular al plano horizontal definido por lambda y bregma (Paxinos y Franklin, 2001) (B) Visión oblicua (C) Visión lateral. Adaptado de “Neocortex”, por Kirkcaldie, 2012. En *The Mouse Nervous System* (pp. 52-111).

1.5. CIRCUITO CORTICOESTRIATAL

Como se ha mencionado anteriormente, la corteza cerebral está altamente conectada con el estriado y sus proyecciones son esenciales para la ejecución precisa y coordinada de movimientos voluntarios. La vía neural que conecta ambas estructuras se conoce como el circuito corticoestriatal y este está implicado en la selección y aprendizaje de acciones basadas en recompensas y castigos, lo que subyace a la formación de hábitos y comportamientos automatizados.

Dado que se ha demostrado que la actividad neuronal estriatal está involucrada en el movimiento, el aprendizaje y el comportamiento dirigido a metas, es crucial entender el patrón de conectividad cortical y las dinámicas que moldean el flujo de información en el estriado.

En la actualidad, es ampliamente conocido que las neuronas corticales regulan la actividad de las MSNs en el estriado a través de proyecciones glutamatérgicas/excitatorias (Rock et al., 2016). No obstante, estudios recientes han observado la relación de las interneuronas inhibitorias GABAérgicas de la corteza cerebral con las MSNs del estriado y su capacidad para alterar su actividad y, consecuentemente, la información de salida del estriado.

Un estudio previo (Rock et al., 2016) sobre las interneuronas SOM de algunas zonas corticales sensoriomotoras proporciona evidencias anatómicas y fisiológicas que describen un circuito inhibitorio directo corticoestriatal previamente desconocido.

Una investigación posterior, (Melzer et al., 2017) demuestra proyecciones de interneuronas PV y SOM de largo alcance desde áreas corticales motoras que inervan directamente al estriado y ejercen un efecto modulador en el comportamiento.

1.6. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Teniendo en cuenta el marco teórico y los estudios recientes donde se demuestra la existencia de proyecciones GABAérgicas corticoestriatales antes no descritas, desde áreas motoras y sensoriales, nuestra hipótesis postula que las interneuronas PV y SOM de otras áreas corticales como FrA, S1 y M1, implicadas en el sistema sensoriomotor, pueden estar enviando proyecciones inhibitorias al estriado que moldean el patrón de actividad que las *MSNs* establecen con el resto de neuronas de los núcleos basales, modificando en última instancia la salida de información de los ganglios basales y por tanto la conducta.

El objetivo de este TFG es investigar, mediante un estudio anatómico, la implicación de las interneuronas PV y SOM de las diferentes áreas corticales FrA, M1 y S1 en esta posible vía inhibitoria corticoestriatal de largo alcance.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. PROCEDIMIENTO ÉTICO

Todos los procedimientos experimentales fueron realizados conforme a la directiva 2010/63/EU del Parlamento Europeo y del Consejo, y el real decreto 53/2013 de la regulación española de protección de animales para propósitos científicos, aprobado por el gobierno autonómico de la Comunidad Valenciana, bajo la supervisión del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y el comité de la Universidad Miguel Hernández para el uso de animales en el laboratorio.

2.2. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Para hacer un marcaje específico a las interneuronas usando el sistema cre lox con los virus cre dependientes se emplearon tres ratones de la línea Pv-cre (The Jackson Laboratory, #017320) y dos de la línea SOM-cre (The Jackson Laboratory, #013044).

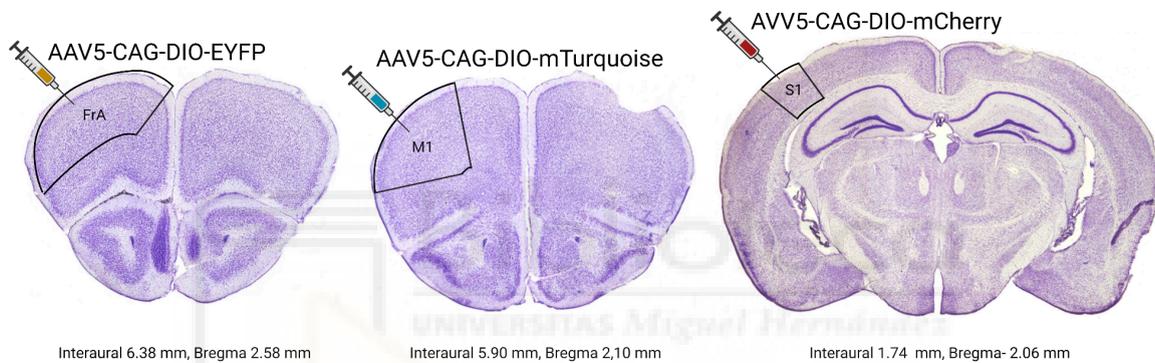
Para el marcaje de las interneuronas se llevó a cabo la inyección de los virus AAV5-CAG-DIO-EYFP, AAV5-CAG-DIO-mTurquoise y AAV5-CAG-DIO-mCherry intracerebralmente de manera unilateral (300 nL) con un inyector (Nanoliter, WPI) en FrA, M1 y S1 de manera aleatoria.

Para M1 y S1 se hicieron dos inyecciones lateromediales, mientras que para Fra solo se realizó una. Las coordenadas de inyección respecto a bregma (Paxinos y Franklin, 2001), como se muestra en la Figura 8, fueron: AP +2.8 mm, LM +1.8 mm DV -0.5 mm para FrA; AP +2 mm, LM +1.75 mm y 2.25 mm (150 nL en cada coordenada latero-medial) DV -0.7 mm para M1; y AP -1.5 mm LM +3.25 mm y +3.75 mm (150 nL en cada coordenada latero-medial) DV -0.8 mm para S1.

Tras la inyección de los virus, se esperó 3 semanas para la extracción de las muestras.

Figura 5

Esquema del sitio de inyección en cada corteza



Nota. Esquema que muestra el sitio de inyección en cortes coronales para FrA, M1 y S1 de los virus AAV5-CAG-DIO-EYFP, AAV5-CAG-DIO-mTurquoise y AVV5-CAG-DIO-mCherry y sus coordenadas (Paxinos y Franklin, 2001). Creado con biorender.com.

2.3. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Para el estudio anatómico, los animales fueron perfundidos y los cerebros se conservaron a 4°C con una solución salina amortiguada por fosfatos (PBS) 1x. El PBS es una solución amortiguadora de pH, con una osmolaridad y concentración de iones muy semejante a la del líquido extracelular de los mamíferos que no modifica el perfil de expresión y funcionamiento celular normal, por lo que se suele usar para conservar y lavar células (Universidad Autónoma de San Luis Potosí [UASLP], 2008).

Para obtener la solución *PBS1x* primero se necesita preparar una solución *PBS10x*, nosotros preparamos 1000mL mediante el siguiente procedimiento:

- 1. Agregar 80 g de NaCl, 2 g de KCl, 21.7 g de Na₂HPO₄ y 2.59 g de KH₂PO₄ a un vaso de preparación.
- 2. Añadir el 80% del volumen de dH₂O requerido y mezclar encima de un agitador magnético hasta que las sales se diluyan.
- 3. Ajustar el valor del pH para que se sitúe entre 7.2 y 7.4 con 1M HCl o 10M NaOH. HCl hace que la solución sea más ácida mientras que NaOH la hace más básica; se añaden gota a gota con una pipeta según sea necesario mientras se monitorea el pH de la solución.
- 4. Por último, se añade dH₂O hasta completar los 1000 mL y se mantiene a temperatura ambiente.

Una vez obtenida la solución *PBS10x*, se diluye con dH₂O para conseguir la solución *PBS1x*.

Los cerebros conservados en *PBS1x* fueron trasladados a una solución de sucrosa 30% 48h antes de ser cortados en un criotomo.

El criotomo es un instrumento de corte formado por una plataforma que se congela a bajas temperaturas, en nuestro caso a -25°C, sobre la que se coloca el cerebro, que se congela por contacto directo con esta y mantiene una temperatura constante durante todo el tiempo de corte. El funcionamiento básico del criotomo consiste en que, tras cada corte, la plataforma se eleva un espacio correspondiente al grosor seleccionado (40 µm en nuestro caso). Las secciones obtenidas son recogidas con un pincel y añadidas a una placa de pocillos con *PBS1x* y se trabaja con ellas en flotación.

2.4. INMUNOHISTOQUÍMICA

Una vez obtenidos los cortes, fueron lavados 3 veces con *PBS1x* y tras cada lavado se dejaron durante 10 minutos en agitación suave a temperatura ambiente, para eliminar por completo la sucrosa.

Posteriormente, se montaron sobre el portaobjetos con gel de Mowiol, que proporciona un medio de montaje capaz de preservar la estructura y la inmunofluorescencia de las muestras a largo plazo.

2.5. OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE IMÁGENES

Para obtener las imágenes, se usó el microscopio invertido Leica Thunder Imager, que permite capturar imágenes detalladas de estructuras morfológicas como axones y dendritas de neuronas en los cortes de tejido cerebral. Las imágenes se tomaron en escala con un aumento de 20x.

Tras la adquisición de las imágenes, estas fueron analizadas mediante un *script* de python realizado en el laboratorio que nos permite cuantificar la cantidad de proyecciones que hay en el estriado además del número de células que han sido infectadas.

2.6. ANÁLISIS DE DATOS

Para llevar a cabo el análisis de los datos, debido al bajo número de muestras de las que disponemos (tan solo cinco cerebros: dos SOM-cre y tres PV-cre), se extrajeron los datos proporcionados por el *script* y se normalizaron con respecto al número de neuronas infectadas en el sitio de inyección. Estos datos mostraban, para cada uno de los diferentes cerebros, las proyecciones de cada tipo de interneurona PV o SOM de cada área cortical estudiada cada hacia las diferentes regiones del estriado (*DLS*, *DMS*, *VEN*).

Los datos se mostraron gráficamente usando un *heatmap*, una representación gráfica de los datos en un mapa usando colores, de forma que la información expuesta se comprenda de forma intuitiva y visual. El *heatmap* muestra el porcentaje de proyecciones en el estriado de las interneuronas PV o SOM procedentes de FrA, M1 y S1 normalizadas respecto a las neuronas infectadas en el sitio de inyección, mostrando en el eje x las coordenadas del estriado en las que se registran las proyecciones y en el eje y la división del estriado que recibe las proyecciones desde cada área cortical.

3. RESULTADOS

Como se ha mencionado anteriormente, las interneuronas desempeñan un papel esencial en la neurotransmisión inhibitoria de la corteza y, a pesar de que tradicionalmente se creía que solo mandaban sus axones de forma local, recientemente se ha descubierto su implicación en vías inhibitorias de largo alcance que conectan la corteza cerebral con otras regiones.

Para estudiar estas proyecciones GABAérgicas de las interneuronas SOM y PV de las áreas corticales sensoriomotoras FrA, M1 y S1 y comprobar la existencia de proyecciones al

estriado, inyectamos los virus cre dependientes en las áreas corticales de interés en dos ratones SOM-cre y tres ratones PV-cre.

Tras la inyección del virus en las áreas corticales, se esperó 3 semanas y se obtuvo imágenes del estriado de los cinco cerebros, que fueron analizadas usando python para cuantificar el número de células infectadas en el estriado, es decir, las proyecciones. Estas fueron normalizadas con respecto al número de células infectadas por el virus en el área cortical de inyección.

3.1. PROYECCIONES DE INTERNEURONAS SOM

Para visualizar gráficamente los datos obtenidos mediante el *script* se preparó un *heatmap* (Figura 6), en el que se representan las proyecciones en el estriado de las interneuronas corticales SOM de las áreas estudiadas normalizadas respecto a las neuronas infectadas en el sitio de inyección.

Para la representación de los resultados mediante imágenes anatómicas (Figura 7) se seleccionaron las coordenadas del estriado con respecto a Bregma (Paxinos y Franklin, 2001) que presentaban un mayor porcentaje de proyecciones desde las interneuronas corticales SOM de cada área (+0.46 a +0.14 para FrA y -0.62 a -0.94 para M1 y S1), para garantizar que la ausencia de neuronas infectadas visibles en el estriado no se debe a un error en el sitio de observación.

Esto resultó en la identificación de una subpoblación de neuronas GABAérgicas que expresan SOM pertenecientes a S1 que proyecta directamente al estriado (Figura 6A y 7B3). Los valores obtenidos y representados en la Figura 6A sugieren que estas neuronas inervan principalmente al estriado dorsomedial (*DMS*) y en menor medida al estriado dorsolateral (*DLS*), ambos en coordenadas posteriores; en cambio, los resultados no muestran proyecciones desde S1 al estriado ventral (*VEN*). Además, en las imágenes anatómicas de la Figura 7B3, se puede observar la presencia de estas células infectadas en las regiones dorso-posteriores del estriado.

Para las áreas corticales FrA y M1, el valor de proyecciones GABAérgicas de las interneuronas SOM no es significativo en ninguna de las regiones del estriado y, adicionalmente, no se observan neuronas infectadas en las imágenes anatómicas (Figura 7 B1

y B2), lo que sugiere la ausencia de proyecciones GABAérgicas inhibitorias desde estas áreas.

3.2. PROYECCIONES DE INTERNEURONAS PV

Para la visualización de los resultados obtenidos en ratones PV-cre tras la inyección de los virus y la obtención de los datos mediante un *script* se preparó, igual que para las interneuronas SOM, un *heatmap* (Figura 6B) en el que se representan las proyecciones de las interneuronas PV de las áreas de la corteza cerebral estudiadas hacia el estriado, normalizadas respecto a las neuronas infectadas en el sitio de inyección.

Para la observación de los resultados mediante imágenes anatómicas (Figura 7) se siguió el mismo procedimiento empleado en las imágenes para las proyecciones de SOM, siendo mostradas en las imágenes las coordenadas con valores más altos de proyecciones en el estriado: +1.54 a +1.22 para FrA, -0.62 a -0.94 para M1 y -1.34 a -1.7 para S1.

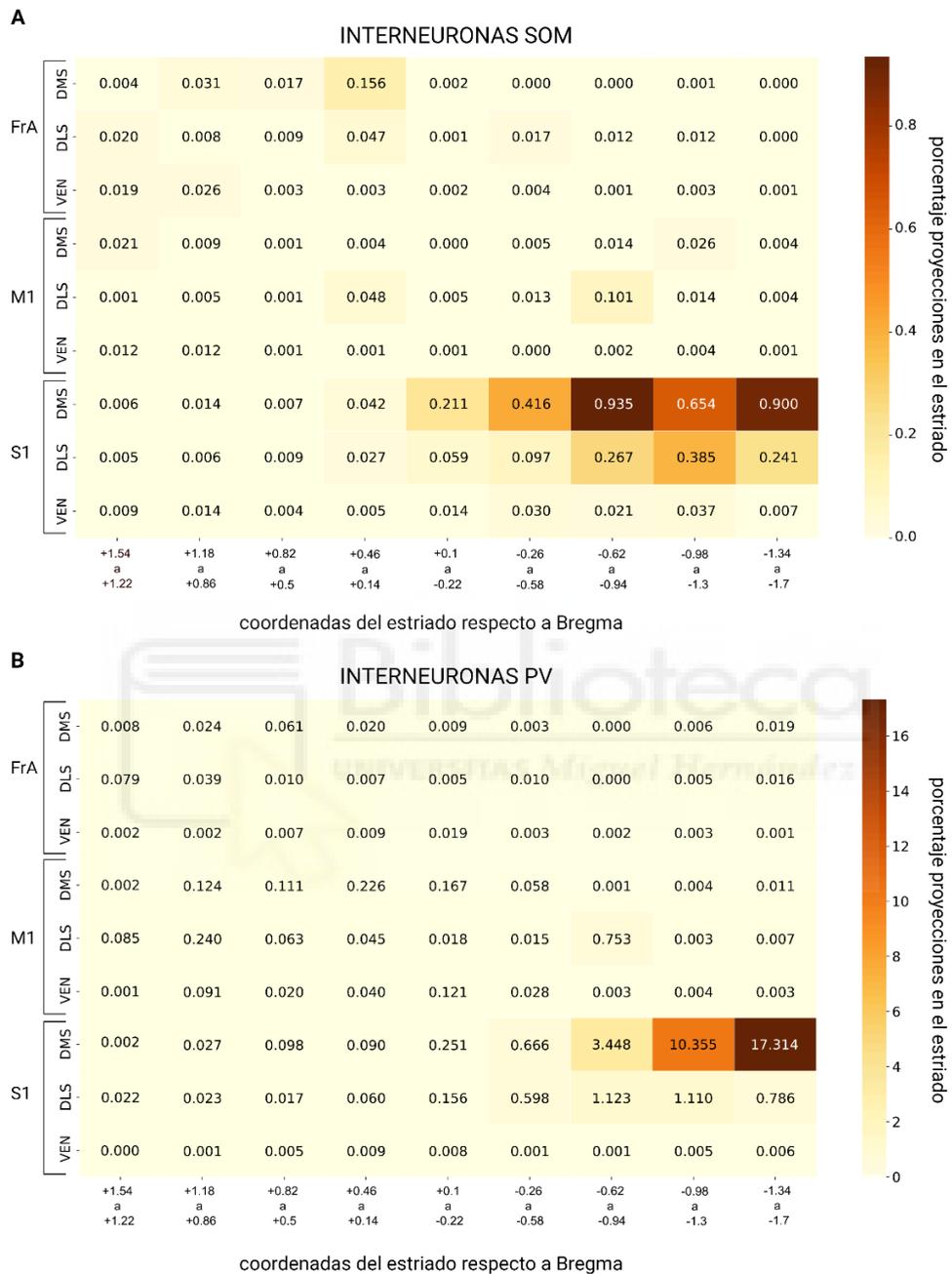
Los resultados obtenidos muestran la existencia de proyecciones de interneuronas GABAérgicas que expresan PV hacia el estriado desde las áreas corticales M1 y S1 (Figura 6B y 7D2 y D3).

Los valores obtenidos y mostrados en la Figura 6B sugieren que las interneuronas PV de M1 proyectan exclusivamente al *DLS* y no a las otras regiones, y estas proyecciones están presentes en coordenadas posteriores. En cambio, las interneuronas PV de S1 muestran valores significativos de proyección tanto para *DLS* como para *DMS*, aunque para este último la cantidad de proyecciones es significativamente mayor. No se han encontrado resultados que sugieran que las interneuronas PV de alguna de estas dos áreas proyectan al estriado ventral.

Por último, para el área cortical FrA, nuestros resultados muestran la ausencia de interneuronas GABAérgicas que proyectan a cualquiera de las regiones del estriado. Estos resultados pueden verse reflejados en las imágenes anatómicas obtenidas tras la inyección de los virus (Figura 7D), que revela la ausencia de células infectadas en el estriado por proyecciones PV de FrA, pero muestra células infectadas en M1 y S1.

Figura 6

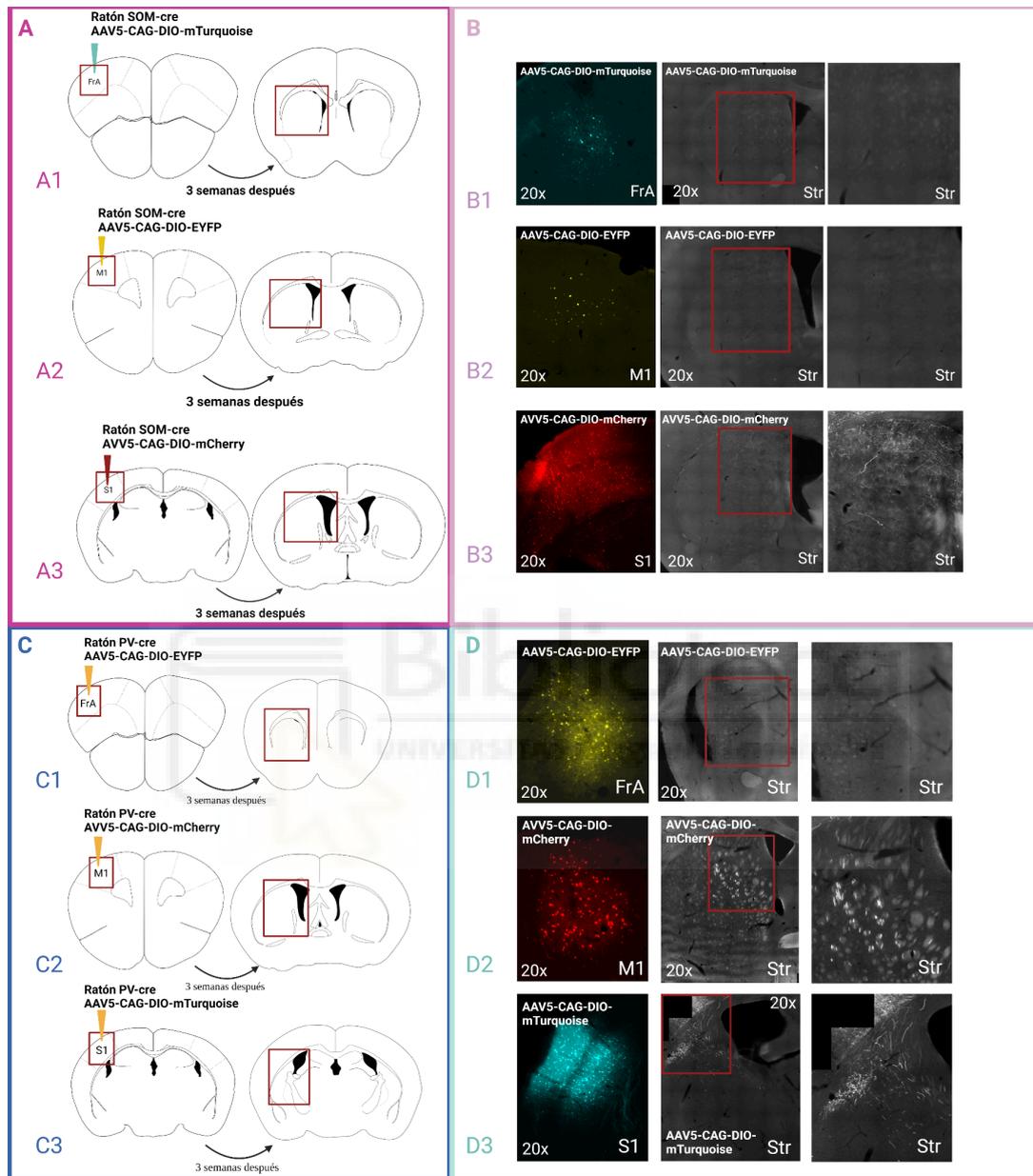
Proyecciones corticales GABAérgicas SOM y PV al estriado



Nota. Heatmap con las coordenadas del estriado respecto a Bregma (Paxinos y Franklin, 2001) (eje x), donde es medido el porcentaje de proyecciones normalizadas de las interneuronas SOM (A) y PV (B) de las áreas corticales sensoriomotoras FrA, M1 y S1 en cada región del estriado: dorsomedial (DMS), dorsolateral (DLS) y ventral (VEN) (eje y).

Figura 7

Interneuronas corticales SOM y PV y sus proyecciones al estriado



Nota. (A, C) Dibujo esquemático del sitio de inyección para ratón SOM-cre en FrA (A1), M1 (A2) y S1 (A3) y PV-cre en FrA (C1), M1 (C2) y S1 (C3) y el lugar de estudio de las proyecciones GABAérgicas de largo alcance en el estriado. (B, D) Imágenes que muestran la sección teñida en el sitio de inyección de la corteza (izquierda) y sus respectivos axones etiquetados con virus en el estriado (centro) tras la inyección en la corteza. Un aumento del área encuadrada en el estriado se muestra en la derecha, para interneuronas SOM (B) y PV (D).

4. DISCUSIÓN

Las interneuronas desempeñan un papel esencial en la neurotransmisión inhibitoria de la corteza y recientemente se ha descubierto su implicación en vías inhibitorias de largo alcance corticoestriatales.

Nuestros resultados sugieren que las áreas corticales M1 y S1 albergan interneuronas GABAérgicas que establecen proyecciones de largo alcance hacia el estriado. En S1 estas interneuronas expresan tanto PV como SOM, mientras que en el área M1 las interneuronas involucradas en el circuito corticoestriatal sólo parecen ser las que expresan PV.

Las interneuronas GABAérgicas PV de M1 proyectan principalmente a zonas dorsolaterales del estriado, que como hemos mencionado anteriormente, están relacionadas con funciones sensoriomotoras. En un estudio previo (Melzer et al., 2017) se describen los efectos comportamentales de la estimulación de estas interneuronas en relación a la locomoción y codificación de refuerzo y castigo. Sus resultados muestran que la estimulación de estas interneuronas causa una reducción de la locomoción mediante el incremento de la duración de los periodos de inmovilidad; en cambio, no encuentran diferencias con los ratones control en la tarea de preferencia de lugar que emplean para medir la codificación de refuerzo y castigo.

Sin embargo, tanto las interneuronas PV como SOM de S1 además de proyectar al estriado dorsolateral, y estar por tanto relacionadas con funciones sensoriomotoras, proyectan en mayor escala al estriado dorsomedial, que está involucrado en funciones cognitivas. Esto nos lleva a pensar que las interneuronas GABAérgicas de S1, además de estar involucradas en la expresión de comportamientos dirigidos a una meta a través del movimiento, también están altamente involucradas en los procesos que conducen a ese movimiento, como la planificación, el aprendizaje procedimental y tareas relacionadas con la memoria de trabajo (Haber, 2016).

Debido a limitaciones de tiempo y recursos no hemos podido llevar a cabo experimentos conductuales que muestren los posibles efectos comportamentales de su estimulación y no existen estudios previos que lo hayan comprobado; pero nuestra hipótesis es que, debido a que estas interneuronas proyectan tanto a regiones relacionadas con funciones sensoriomotoras (*DLS*) como cognitivas (*DMS*), su estimulación tendrá efectos tanto en el control motor como en la codificación de la recompensa y castigo.

En relación con los resultados obtenidos para las interneuronas de FrA y dada la existencia de una alta conectividad funcional de esta área con la actividad de la región dorsolateral del estriado (Alegre-Cortés et al., 2021), nuestros resultados nos llevan a pensar que estas conexiones son exclusivamente glutamatérgicas excitatorias y no GABAérgicas inhibitorias, debido a que no obtenemos valores significativos de proyecciones de las interneuronas PV y SOM desde FrA al estriado.

Este trabajo muestra la existencia de una vía de inhibición GABAérgica corticoestriatal desde las áreas sensoriomotoras M1 y S1. Sin embargo, es importante remarcar que estos resultados son preliminares y están influidos por algunas limitaciones como un número bajo de muestras, la ausencia de experimentos conductuales que prueben sus efectos en el comportamiento, y otras limitaciones más técnicas como la cantidad limitada de virus que se puede inyectar para prevenir la propagación más allá de las áreas objetivo, que puede estar influyendo en la subestimación de las proyecciones. Finalmente, también es necesario estudiar la funcionalidad de esas proyecciones; podría ocurrir que los axones estuvieran cruzando el estriado sin contactar con sus neuronas. Esta posibilidad, no es descartable, especialmente en la parte más posterior del estriado, donde se observan una gran cantidad de axones que descienden ipsilateralmente hacia otros núcleos o regiones profundas, como el tálamo o la médula espinal.

Existen distintas razones que pueden explicar por qué estas conexiones no se han descubierto hasta hace poco (Rock et al., 2016). En primer lugar, la escasez de interneuronas GABAérgicas de largo alcance en relación con el gran número de neuronas excitatorias que se encuentran en la misma área y extienden sus axones con un recorrido similar puede presentar una dificultad para su detección mediante marcaje anterógrado y retrógrado. En segundo lugar, la mayoría de los estudios previos se ha centrado en áreas estriatales más dorso-anteriores, por lo que es muy poco probable que muestren proyecciones GABAérgicas de largo alcance desde áreas sensoriomotoras, debido a que, como hemos demostrado, estas proyectan más hacia áreas posteriores del estriado.

5. CONCLUSIÓN

1. Existe una vía inhibitoria de proyecciones GABAérgicas de largo alcance que inerva directamente al estriado
2. Las interneuronas PV de M1 están involucradas en esta vía inhibitoria corticoestriatal.
3. S1 contiene interneuronas que expresan SOM y PV que mandan proyecciones de largo alcance hacia el estriado a través de esta vía inhibitoria.

El estriado es la principal estructura de entrada de información a los ganglios basales, un complejo que participa en funciones motoras, cognitivas, emocionales y motivacionales, por lo que sus alteraciones pueden causar una variedad de trastornos motores y psiquiátricos como la Enfermedad de Parkinson, la Enfermedad de Huntington, Trastorno del Espectro Autista, Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad, Depresión Mayor, Ansiedad Generalizada y Esquizofrenia, entre otros.

El circuito corticoestriatal es una vía neural que conecta la corteza cerebral con el estriado y es ampliamente conocido que las neuronas corticales regulan la actividad de las MSNs en el estriado a través de proyecciones glutamatérgicas/excitatorias. **Este trabajo sugiere la existencia de una vía corticoestriatal GABAérgica/inhibitoria desde las áreas corticales M1 y S1.**

Conocer el patrón de conectividad corticoestriatal y las dinámicas que moldean el flujo de información que llega al estriado es vital para comprender, en última instancia, los cambios comportamentales derivados de la función o disfunción de los ganglios basales. Es por ello que este trabajo se ha enfocado dentro del marco de la neurociencia cognitiva, un área donde la psicología y la neurociencia convergen para dar respuesta a cómo el SNC está vinculado con los procesos mentales y el comportamiento.

Mediante el estudio de la implicación de las interneuronas GABAérgicas PV y SOM de las áreas corticales FrA, M1 y S1 en el circuito corticoestriatal, este trabajo aporta conocimientos sobre los procesos que pueden subyacer al desarrollo de trastornos relacionados con los ganglios basales.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Adnani, L., Han, S., Li, S., Mattar, P., & Schuurmans, C. (2018). Mechanisms of Cortical Differentiation. *International review of cell and molecular biology*, 336, 223–320. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2017.07.005>
- Alegre-Cortés, J., Sáez, M., Montanari, R., y Reig, R. (2021). Medium spiny neurons activity reveals the discrete segregation of mouse dorsal striatum. *eLife*, 10. <https://doi.org/10.7554/elife.60580>
- Basile, G. A., Bertino, S., Bramanti, A., Ciurleo, R., Anastasi, G. P., Milardi, D., y Cacciola, A. (2021). Striatal topographical organization: Bridging the gap between molecules, connectivity and behavior. *European Journal of Histochemistry*, 65(s1). <https://doi.org/10.4081/ejh.2021.3284>
- Bolam, J. P., Hanley, J. J., Booth, P. A. C., y Bevan, M. D. (2000). Synaptic organisation of the basal ganglia. *Journal of Anatomy*, 196(4), 527-542. <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2000.19640527.xç>
- Bruurmijn, M. L. C. M., Pereboom, I. P. L., Vansteensel, M. J., Raemaekers, M. A. H., y Ramsey, N. F. (2017). Preservation of hand movement representation in the sensorimotor areas of amputees. *Brain: A Journal of Neurology*, 140 (12), 3166-3178. <https://doi.org/10.1093/brain/awx274>
- Calabresi, P., Picconi, B., Tozzi, A., Ghiglieri, V., y Di Filippo, M. (2014). Direct and indirect pathways of basal ganglia: a critical reappraisal. *Nature Neuroscience*, 17(8), 1022-1030. <https://doi.org/10.1038/nn.3743>
- Condylis, C., Lowet, E., Ni, J., Bistrong, K., Ouellette, T., Josephs, N., y Chen, J. L. (2020). Context-dependent sensory processing across primary and secondary

somatosensory cortex. *Neuron*, 106(3), 515-525.e5.

<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.02.004>

Del Rey, N. L.-G., Trigo-Damas, I., Obeso, J. A., Cavada, C., y Blesa, J. (2022).

Neuron types in the primate striatum: Stereological analysis of projection neurons and interneurons in control and parkinsonian monkeys.

Neuropathology and Applied Neurobiology, 48(5).

<https://doi.org/10.1111/nan.12812>

Ebina, T., Sasagawa, A., Hong, D., Setsuie, R., Obara, K., Masamizu, Y., Kondo, M.,

Terada, S.-I., Ozawa, K., Uemura, M., Takaji, M., Watakabe, A., Kobayashi,

K., Ohki, K., Yamamori, T., Murayama, M., y Matsuzaki, M. (2023).

Dynamics of motor direction representation in the primate premotor and primary motor cortices during sensorimotor learning. En *bioRxiv* (p.

2023.09.13.556461). <https://doi.org/10.1101/2023.09.13.556461>

Fino, E., Packer, A. M., y Yuste, R. (2013). The logic of inhibitory connectivity in the

neocortex. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology,*

Neurology and Psychiatry, 19(3), 228-237.

<https://doi.org/10.1177/1073858412456743>

Gagnon, D., Petryszyn, S., Sanchez, M. G., Bories, C., Beaulieu, J. M., De Koninck,

Y., Parent, A., y Parent, M. (2017). Striatal neurons expressing D1 and D2

receptors are morphologically distinct and differently affected by dopamine denervation in mice. *Scientific Reports*, 7(1).

<https://doi.org/10.1038/srep41432>

- Geldwert, D., Norris, J. M., Feldman, I. G., Schulman, J. J., Joyce, M. P., y Rayport, S. (2006). Dopamine presynaptically and heterogeneously modulates nucleus accumbens medium-spiny neuron GABA synapses in vitro. *BMC Neuroscience*, 7(1), 53. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-7-53>
- Gerfen, C. R., y Bolam, J. P. (2010). The neuroanatomical organization of the basal ganglia. En Huston, J. y Steiner, H. (Eds.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (pp. 3-28). Elsevier.
- Graveland, G. A., y Difiglia, M. (1985). The frequency and distribution of medium-sized neurons with indented nuclei in the primate and rodent neostriatum. *Brain Research*, 327(1-2), 307-311.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91524-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91524-0)
- Graybiel, A. M., y Grafton, S. T. (2015). The striatum: Where skills and habits meet. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(8), a021691.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021691>
- Grillner, S., Hellgren, J., Kozlov, A., Hjorth, J., Carannante, I. y Frost-Nylén, J. (s.f.). Basal ganglia. Humanbrainproject.Eu. Recuperado el 7 de mayo de 2024 de <https://www.humanbrainproject.eu/en/brain-simulation/basal-ganglia/>
- Haber, S. N. (2016). Corticostriatal circuitry. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 18(1), 7-21. <https://doi.org/10.31887/dcns.2016.18.1/shaber>
- Haines, D. E., y Mihailoff, G. A. (2018). *Fundamental Neuroscience for Basic and Clinical Applications*. Elsevier - Health Sciences Division.

- Harnad, S. (2017). To cognize is to categorize: Cognition is categorization. En H. Cohen & C. Lefebvre (Eds.), *Handbook of categorization in cognitive science* (2nd ed., pp. 21–54). Elsevier Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101107-2.00002-6>
- Hasegawa, T., Chiken, S., Kobayashi, K., y Nambu, A. (2022). Subthalamic nucleus stabilizes movements by reducing neural spike variability in monkey basal ganglia. *Nature Communications*, *13*(1).
<https://doi.org/10.1038/s41467-022-29750-2>
- Hu, W., Zhang, M., Czéh, B., Flügge, G., y Zhang, W. (2010). Stress impairs GABAergic network function in the hippocampus by activating nongenomic glucocorticoid receptors and affecting the integrity of the parvalbumin-expressing neuronal network. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *35*(8), 1693-1707. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.31>
- Hubatz, S., Hucher, G., Shulz, D. E., y Férézou, I. (2020). Spatiotemporal properties of whisker-evoked tactile responses in the mouse secondary somatosensory cortex. *Scientific Reports*, *10*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57684-6>
- Kawaguchi, Y., Wilson, C. J., Augood, S. J., y Emson, P. C. (1995). Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends in Neurosciences*, *18*(12), 527-535.
[https://doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)98374-8](https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)98374-8)
- Kirkcaldie M. T. K. (2012). Neocortex. En Watson C, Paxinos G, Puelles L (Eds.), *The Mouse Nervous System* (pp. 52–111). Academic Press.

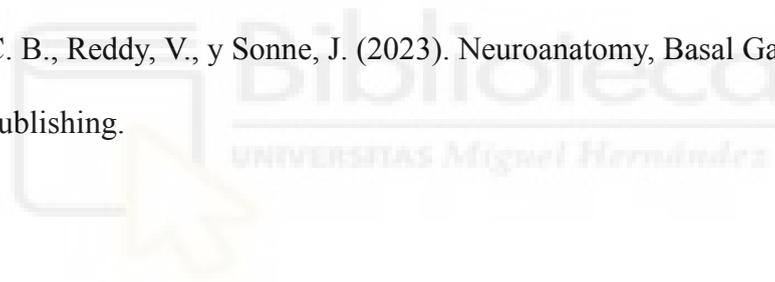
- Kleim, J. A. (2009). Synaptic Mechanisms of Learning. En *Encyclopedia of Neuroscience* (pp. 731-734).
- Laboratorio de Genómica Viral y Humana, Facultad de Medicina UASLP. (2008). Preparación de Phosphate Buffered Saline (PBS) [PDF].
https://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Cell_PBS_SPA.pdf
- Lanciego, J. L., Luquin, N., y Obeso, J. A. (2012). Functional neuroanatomy of the basal ganglia. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(12), a009621-a009621. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009621>
- Liguz-Leczna, M., Dobrzanski, G., y Kossut, M. (2022). Somatostatin and somatostatin-containing interneurons—from plasticity to pathology. *Biomolecules*, 12(2), 312. <https://doi.org/10.3390/biom12020312>
- Macpherson, T., y Hikida, T. (2019). Role of basal ganglia neurocircuitry in the pathology of psychiatric disorders. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 73(6), 289-301. <https://doi.org/10.1111/pcn.12830>
- Melzer, S., Gil, M., Koser, D. E., Michael, M., Huang, K. W., y Monyer, H. (2017). Distinct corticostriatal GABAergic neurons modulate striatal output neurons and motor activity. *Cell Reports*, 19(5), 1045-1055.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.04.024>
- Megías, M., Molist, P., y Pombal, M. Á. (2023). Órganos animales. Sistema nervioso central. Subpalio. *Atlas de Histología Vegetal y Animal*. Recuperado el 7 de mayo de 2024 de
https://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/guiada_o_a_01subpalio.php

- Miyashita, Y. (2022). Operating principles of the cerebral cortex as a six-layered network in primates: beyond the classic canonical circuit model. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences*, 98(3), 93-111. <https://doi.org/10.2183/pjab.98.007>
- Moini, J., y Piran, P. (2020). *Functional and clinical neuroanatomy: A guide for health care professionals*. Academic Press.
- Muñoz-Manchado, A. B., Bengtsson Gonzales, C., Zeisel, A., Munguba, H., Bekkouche, B., Skene, N. G., Lönnerberg, P., Ryge, J., Harris, K. D., Linnarsson, S., y Hjerling-Leffler, J. (2018). Diversity of interneurons in the dorsal striatum revealed by single-cell RNA sequencing and PatchSeq. *Cell Reports*, 24(8), 2179-2190.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.053>
- Nahar, L., Delacroix, B. M., y Nam, H. W. (2021). The role of parvalbumin interneurons in neurotransmitter balance and neurological disease. *Frontiers in psychiatry*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.679960>
- Nakajima, T., Hosaka, R., y Mushiake, H. (2022). Complementary roles of primate dorsal premotor and pre-supplementary motor areas to the control of motor sequences. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 42(36), 6946-6965. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2356-21.2022>
- Olson, J. M., Li, J. K., Montgomery, S. E., y Nitz, D. A. (2020). Secondary motor cortex transforms spatial information into planned action during navigation. *Current Biology*, 30(10), 1845-1854.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.03.016>

- Paxinos, G., y Franklin, K. B. J. (2001). *The mouse brain in stereotaxic coordinates: Deluxe edition* (2.a ed.). Academic Press.
- Proal, E., Olvera, J. G., Blancas, A. S., Chalita, P. J., y Xavier Castellanos, F. (2013). Neurobiología del autismo y TDAH mediante técnicas de neuroimagen: divergencias y convergencias. *Revista de Neurología*, 57(0 1), S163.
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., LaMantia, A.-S., McNamara, J. O., y Mark Williams, S. (2001). *The Association Cortices*. Sinauer Associates.
- Riemann, B. L., y Lephart, S. M. (2002). The sensorimotor system, part I: the physiologic basis of functional joint stability. *Journal of Athletic Training*, 37(1), 71-79.
- Rocha, G. S., Freire, M. A. M., Britto, A. M., Paiva, K. M., Oliveira, R. F., Fonseca, I. A. T., Araújo, D. P., Oliveira, L. C., Guzen, F. P., Morais, P. L. A. G., y Cavalcanti, J. R. L. P. (2023). Basal ganglia for beginners: the basic concepts you need to know and their role in movement control. *Frontiers in systems neuroscience*, 17. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2023.1242929>
- Rock, C., Zurita, H., Wilson, C., y Apicella, A. J. (2016). An inhibitory corticostriatal pathway. *eLife*, 5. <https://doi.org/10.7554/eLife.15890>
- Santiago, L. F., Freire, M. A. M., Picanço-Diniz, C. W., Franca, J. G., y Pereira, A. (2019). The organization and connections of second somatosensory cortex in the Agouti. *Frontiers in neuroanatomy*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnana.2018.00118>

- Smith, J. B., Klug, J. R., Ross, D. L., Howard, C. D., Hollon, N. G., Koerner, C. M., ... y Jin, X. (2016). Genetic-based dissection unveils the inputs and outputs of striatal cholinergic interneurons. *Frontiers in Neuroanatomy*, *10*, 20.
- Steiner, y Tseng, H. (2016). *Handbook of basal ganglia structure and function*, 2 Edn. Academic Press.
- Taub, D. G., Jiang, Q., Pietrafesa, F., Su, J., Carroll, A., Greene, C., Blanchard, M. R., Jain, A., El-Rifai, M., Callen, A., Yager, K., Chung, C., He, Z., Chen, C., y Woolf, C. J. (2024). The secondary somatosensory cortex gates mechanical and heat sensitivity. *Nature Communications*, *15*(1).
<https://doi.org/10.1038/s41467-024-45729-7>
- Thau, L., Reddy, V., y Singh, P. (2022). Anatomy, central nervous system. StatPearls Publishing.
- Thibault, D., Loustalot, F., Fortin, G. M., Bourque, M.-J., y Trudeau, L.-É. (2013). Evaluation of D1 and D2 dopamine receptor segregation in the developing striatum using BAC transgenic mice. *PloS One*, *8*(7), e67219.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067219>
- Tjia, M., Yu, X., Jammu, L. S., Lu, J., y Zuo, Y. (2017). Pyramidal neurons in different cortical layers exhibit distinct dynamics and plasticity of apical dendritic spines. *Frontiers in neural circuits*, *11*.
<https://doi.org/10.3389/fncir.2017.00043>
- Tremblay, R., Lee, S., y Rudy, B. (2016). GABAergic interneurons in the neocortex: From cellular properties to circuits. *Neuron*, *91*(2), 260-292.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.033>

- Tsodyks, M. V., Skaggs, W. E., Sejnowski, T. J., y McNaughton, B. L. (1997). Paradoxical effects of external modulation of inhibitory interneurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 17(11), 4382-4388. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-11-04382.1997>
- Wang, Y., Ye, M., Kuang, X., Li, Y., y Hu, S. (2018). A simplified morphological classification scheme for pyramidal cells in six layers of primary somatosensory cortex of juvenile rats. *IBRO Reports*, 5, 74-90. <https://doi.org/10.1016/j.ibror.2018.10.001>
- Yin, H. H., y Knowlton, B. J. (2006). The role of the basal ganglia in habit formation. *Nature Reviews. Neuroscience*, 7(6), 464-476. <https://doi.org/10.1038/nrn1919>
- Young, C. B., Reddy, V., y Sonne, J. (2023). Neuroanatomy, Basal Ganglia. StatPearls Publishing.



7. ANEXOS



INFORME DE EVALUACIÓN DE INVESTIGACIÓN RESPONSABLE DE 1. TFG (Trabajo Fin de Grado)

Elche, a 24/05/2024

Nombre del tutor/a	Daniel Lloret Irlles
Nombre del alumno/a	Marta Navarro Bernad
Tipo de actividad	Adherido a un proyecto autorizado
Título del 1. TFG (Trabajo Fin de Grado)	UNA VÍA DE INHIBICIÓN CORTICOESTRIATAL: IMPLICACIÓN DE LAS INTERNEURONAS CORTICALES PV Y SOM
Evaluación de riesgos laborales	No solicitado/No procede
Evaluación ética humanos	No solicitado/No procede
Código provisional	240520090202
Código de autorización COIR	TFG.GPS.DLI.MNB.240520
Caducidad	2 años

Se considera que la presente actividad no supone riesgos laborales adicionales a los ya evaluados en el proyecto de investigación al que se adhiere. No obstante, es responsabilidad del tutor/a informar y/o formar al estudiante de los posibles riesgos laborales de la presente actividad.

La necesidad de evaluación ética del trabajo titulado: **UNA VÍA DE INHIBICIÓN CORTICOESTRIATAL: IMPLICACIÓN DE LAS INTERNEURONAS CORTICALES PV Y SOM** ha sido realizada en base a la información aportada en el formulario online: "TFG/TFM: Solicitud Código de Investigación Responsable (COIR)", habiéndose determinado que no requiere ninguna evaluación adicional. Es importante destacar que si la información aportada en dicho formulario no es correcta este informe no tiene validez.

Por todo lo anterior, **se autoriza** la realización de la presente actividad.

Atentamente,

Alberto Pastor Campos
Jefe de la Oficina de Investigación Responsable
Vicerrectorado de Investigación y Transferencia



Información adicional:

- En caso de que la presente actividad se desarrolle total o parcialmente en otras instituciones es responsabilidad del investigador principal solicitar cuantas autorizaciones sean pertinentes, de manera que se garantice, al menos, que los responsables de las mismas están informados.
- Le recordamos que durante la realización de este trabajo debe cumplir con las exigencias en materia de prevención de riesgos laborales. En concreto: las recogidas en el plan de prevención de la UMH y en las planificaciones preventivas de las unidades en las que se integra la investigación. Igualmente, debe promover la realización de reconocimientos médicos periódicos entre su personal; cumplir con los procedimientos sobre coordinación de actividades empresariales en el caso de que trabaje en el centro de trabajo de otra empresa o que personal de otra empresa se desplace a las instalaciones de la UMH; y atender a las obligaciones formativas del personal en materia de prevención de riesgos laborales. Le indicamos que tiene a su disposición al Servicio de Prevención de la UMH para asesorarle en esta materia.

La información descriptiva básica del presente trabajo será incorporada al repositorio público de Trabajos fin de Grado y Trabajos Fin de Máster autorizados por la Oficina de Investigación Responsable de la Universidad Miguel Hernández. También se puede acceder a través de <https://oir.umh.es/solicitud-de-evaluacion/tfg-tfm/>

