

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO**



**“ESTIMULACIÓN MEDULAR PARA LA ENFERMEDAD DE
PARKINSON: ROL DE LA VÍA TALAMO-ESTRIATAL EN EL
CONTROL DE LOS SIGNOS MOTORES Y LA ACTIVIDAD
ELÉCTRICA CEREBRAL”**

CAROLINA ISABEL ASTUDILLO VALENZUELA

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOMEDICAS

Director de Tesis: Prof. Dr. Rómulo Fuentes Flores

2021

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO**

**INFORME DE APROBACION TESIS DE
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMEDICAS**

Se informa a la Comisión de Grados Académicos de la Facultad de Medicina, que la Tesis de Doctorado en Ciencias Biomédicas presentada por el candidato

CAROLINA ISABEL ASTUDILLO VALENZUELA

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para optar al Grado de **Doctor en Ciencias Biomédicas** en Examen de Defensa de Tesis rendido el día fecha.

Prof. Dr. Rómulo Fuentes
Director de Tesis
Depto. de Neurociencia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

COMISION INFORMANTE DE TESIS

PROF. DRA. CAROLINA DELGADO PROF. DR. JOSÉ LUIS VALDÉS

PROF. DR. PABLO FUENTEALBA PROF. DR. MARIO HERRERA MARCHITZ
Presidente Comisión de Examen

CONTENIDO

RESUMEN	4
ABSTRACT.....	7
INTRODUCCIÓN.....	9
HIPÓTESIS.....	20
OBJETIVO GENERAL.....	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
MÉTODOS.....	21
Animales.....	21
Electrodos de registro	21
Electrodos medulares.....	21
Cirugías.....	22
1. Lesión con 6OHDA	23
2. Implante de electrodo de registro	23
3. Implante de electrodo medular	23
Protocolo de estimulación	24
Protocolos de registro	24
Procesamiento electrofisiológico.....	25
<i>Análisis de actividad oscilatoria</i>	25
<i>Análisis de actividad evocada</i>	25
Registro y procesamiento de señales de aceleración	26
Análisis de velocidad instantánea	27
Inmunohistoquímica	27
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN.....	56
CONCLUSIÓN.....	66

RESUMEN

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa que afecta directamente el control del movimiento en las personas y se acompaña de cambios en la actividad eléctrica cerebral. Se ha demostrado que estrategias terapéuticas como la suplementación farmacológica y la neuromodulación por implantación de electrodos en los núcleos de la base, logran una mejoría en los síntomas motores modificando también la actividad eléctrica cerebral.

En este contexto, la estimulación eléctrica de la médula espinal se posiciona como una estrategia terapéutica en desarrollo con prometedores resultados en el control de la sintomatología axial de la enfermedad de Parkinson. A partir de la evidencia existente sobre la relación de actividad eléctrica cerebral, movimiento y enfermedad de Parkinson, se ha planteado que los efectos terapéuticos de la estimulación eléctrica de la médula espinal involucrarían la modificación en la actividad eléctrica del núcleo estriado, núcleo que constituye el punto de inicio del circuito motor de los núcleos de la base.

¿Cómo la estimulación eléctrica de los cordones posteriores de la médula espinal modificaría entonces la actividad eléctrica en el estriado?

Por una parte, el núcleo estriado recibe numerosas proyecciones excitatorias desde la corteza cerebral, que a su vez recibe, vía talámica, proyecciones aferentes desde la médula espinal, por lo que a esta vía cortico-estriatal se le ha atribuido un papel clave en los efectos terapéuticos derivados a la estimulación medular. Por otra parte, existe evidencia anatómica de larga data que demuestra que el tálamo también envía proyecciones excitatorias hacia el núcleo estriado, y evidencia más reciente ha mostrado que estas proyecciones tálamo-estriatales sufren modificaciones asociadas a la enfermedad de Parkinson. Estos antecedentes son compatibles con un escenario donde la estimulación medular ejerza su efecto terapéutico tanto a través de la vía cortico-estriatal como la vía tálamo-estriatal.

Para corroborar la participación de la vía tálamo-estriatal en el circuito asociado a los efectos terapéuticos de la estimulación medular planteamos como hipótesis que el núcleo parafascicular del tálamo, lugar de origen de las proyecciones tálamo estriatales, presenta cambios a nivel electrofisiológico asociados a la enfermedad de Parkinson y la aplicación de un protocolo terapéutico de estimulación medular produciría cambios en la actividad eléctrica basal en el núcleo parafascicular en un modelo animal.

El modelo escogido para responder esta hipótesis fue el modelo de lesión con 6-OHDA en el núcleo estriado en ratas adultas de cepa Sprague Dawley. Los animales fueron sometidos a la lesión estriatal, implante de electrodos de registro en la corteza motora, núcleo estriado y núcleo parafascicular, además del implante de electrodo de estimulación medular. Además, se registró el movimiento de los animales mediante video grafía y registro de acelerometría.

Como resultados, profundizamos en la relación existente entre la actividad motora y la actividad del núcleo parafascicular. Nuestros datos demuestran que existe una correlación robusta entre el nivel de movimiento y la actividad neuronal oscilatoria no sólo en el núcleo parafascicular, sino también en corteza motora y núcleo estriado. Un bajo nivel de actividad motora esta correlacionado con un aumento relativo de la actividad oscilatoria en frecuencias menores a 30 Hz, mientras que la actividad motora aumentada está correlacionada con frecuencias mayores a 30 Hz.

Identificamos también que el núcleo parafascicular presenta actividad oscilatoria en la banda theta y que esta actividad oscilatoria está correlacionada con el movimiento, esto tanto para los animales 6-OHDA y animales controles. Además de los cambios electrofisiológicos asociados al movimiento, observamos incrementos en la actividad oscilatoria de 25 a 45 Hz en el estriado y corteza motora de los animales 6-OHDA, aunque estos no fueron revertidos por la estimulación eléctrica de la médula espinal.

La estimulación eléctrica de la médula espinal a 15 Hz demostró ser capaz de evocar una respuesta evocada consistente en el circuito cortico-estriado-

parafascicular. La estimulación a frecuencias superiores a 60 Hz no genera respuestas evocadas claras, sino más bien generó una actividad oscilatoria de baja magnitud en las 3 áreas analizadas.

Estos resultados no permitieron sustentar la hipótesis del trabajo, sin embargo, entregaron nueva información relativa a la relación existente entre la actividad motora y la actividad electrofisiológica en el circuito cortico-estriado- parafascicular, al demostrar que el núcleo parafascicular presenta actividad oscilatoria de baja frecuencia que correlaciona con el estado motor de los animales, además de presentar actividad evocada por la estimulación de la médula espinal.

ABSTRACT

The Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder characterized by movement impairments and modifications in the brain electrical activity. Therapeutic Pharmacological and neuromodulatory strategies, such as levodopa and Deep brain stimulation (DBS), can improve the motor symptoms but also, they change the brain electrical activity.

Spinal cord stimulation is a neuromodulatory strategy that has risen as an alternative for the treatment of motor symptoms in PD, with promising results over the postural and gait impairments. Besides, the evidence has shown that spinal cord stimulation modifies the electrical activity in the striatum and other basal ganglia nuclei.

¿How spinal cord stimulation can modify the electrical activity of the striatum?

The striatum receives excitatory projections from the cerebral cortex and the cerebral cortex receives afferents projections from the spinal cord through the thalamus, thus these cortex-to-striatum projections has been considered a possible pathway recruited by the spinal cord simulation. In addition to the cortical input, since decades we have known that the thalamus also provides excitatory projections to the striatum, although their functional role was neglected for decades. Recent evidence has proven that there is neuronal loss in the parafascicular nucleus, nucleus origin of the thalamic-striatal pathway, and that during Parkinson's disease there are functional changes in this pathway. Considering this background, it is possible that the spinal cord stimulation reaches the striatum through the cortex but also through the thalamus.

Therefore, we stated the hypothesis of the parafascicular nucleus of thalamus suffers electrical modifications in Parkinson disease, and therapeutic intervention based on spinal cord stimulation can modify this electrical activity.

To answer our hypothesis, we injected the toxin 6-OHDA bilaterally in the striatum of Sprague Dawley rats. After the lesion, we implanted recording electrodes within the motor cortex, the striatum and the parafascicular nucleus and we implanted a stimulation electrode over the dorsal spinal cord. Video and acceleration recordings

were registered during stimulation sessions to assess the movement activity of the animals.

Our results showed a strong correlation between the motor state of the animals and the oscillatory electrical activity. Lower levels of movement have a positive correlation with oscillatory activity under 30 Hz and higher level of movement with frequencies over 30 Hz. The correlation is preserved in the 3 areas studied: parafascicular nucleus, striatum and motor cortex.

Along with that correlation, in the parafascicular nucleus of all animals we identified a low frequency activity in the theta band range correlated positively with the level of movement. Increases in oscillatory activity between 25 to 45 Hz were present in the striatum and motor cortex of lesioned animals, but this activity wasn't modified by the spinal cord stimulation.

15 Hz spinal cord stimulation generated evoked responses in the cortical-striatum-parafascicular circuit. Frequencies of stimulation larger than 15 Hz didn't trigger clear evoked responses but a low amplitude oscillatory response in all the areas.

With our results we rejected the hypothesis since we couldn't generate the electrical modification of the oscillatory activity as expected, nevertheless we provided new evidence about the electrical basal activity in the cortico-striatum-parafascicular circuit and the ability of distant stimulation to generated evoked responses in all the areas studied.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por alteraciones motoras que comprenden el enlentecimiento de los movimientos (bradicinesia), inestabilidad postural, rigidez y la aparición de temblor en reposo. Las alteraciones posturales se expresan principalmente como una disminución en la velocidad de la marcha, en el largo de los pasos (Morris et al., 1994) y un significativo incremento en el riesgo de caídas (Fasano et al., 2017).

Dentro de las múltiples manifestaciones de la enfermedad de Parkinson, los cambios que repercuten con mayor impacto en la independencia funcional y grado de discapacidad de las personas afectadas son el enlentecimiento motor y la reducción del balance postural, especialmente durante la marcha (Shulman, 2010). Además de los problemas motores se presentan síntomas no motores sistémicos e inespecíficos, tales como alteraciones del sueño y alteraciones autonómicas.

A pesar de existir subclasificaciones para la EP (Thenganatt & Jankovic, 2014), desde las pioneras investigaciones realizadas por Arvid Carlsson, Oleh Hornykiewicz, George C. Cotzias, and Melvin D. Yahr a la evidencia más reciente existe consenso de que el origen de la EP está dado por la muerte de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra pars compacta (SNc) del mesencéfalo (Duvoisin, 1987; Greenfield & Bosanquet, 1953; Lees et al., 2015; Stern, 1966).

Las neuronas dopaminérgicas de la SNc son neuronas que proyectan hacia el núcleo estriado dorsolateral, formando la llamada vía nigroestriatal. Tanto la SNc como el núcleo estriado forman parte de los denominados núcleos de la base (NB), agrupaciones neuronales subcorticales que participan en funciones motoras y cognitivas. La vía nigroestriatal junto con las proyecciones que nacen en el estriado son parte fundamental del circuito motor de los núcleos de la base, por lo que la degeneración de la vía nigroestriatal estaría detrás de la sintomatología motora característica de la EP.

El circuito motor de los núcleos de la base (NB) nace en las neuronas de proyección del núcleo estriado, llamadas neuronas espinosas medianas (MSN por sus siglas en inglés). Desde las MSN estriatales se originan dos vías antagónicas de regulación del movimiento: la vía directa y vía indirecta. **La vía directa** o estriatonigral está formada por las MSN que expresan el receptor dopaminérgico D1, liberan los neurotransmisores GABA, sustancia P y dinorfina, y proyectan monosinápticamente hacia la sustancia nigra pars reticulata (SNr) y globo pálido interno (GPi). La **vía indirecta** o estriatopalidal, tri-sináptica, está formada por las MSN que expresan el receptor dopaminérgico D2, liberan los neurotransmisores GABA y encefalina, y posee 2 relevos consecutivos, el núcleo globo pálido externo (GPe) y subtalámico (STN), antes de alcanzar los núcleos GPi y SNr (Gerfen et al., 1990; Y. Smith et al., 1998) (Figura 1).

El **modelo canónico** de los núcleos de la base postula que el balance entre la actividad de la vía directa y de la vía indirecta determina el grado de excitación que ejerce el tálamo sobre las cortezas motoras, medido en términos de tasa de descarga neuronal. Las proyecciones de ambas vías convergen en el GPi y SNr modulando la inhibición tónica que existe sobre los núcleos ventral anterior y ventral lateral del tálamo. En condiciones de normalidad, la actividad de la vía directa constituiría un circuito de retroalimentación positiva hacia la corteza motora, mientras que la vía indirecta tendría un efecto de retroalimentación negativa sobre esta misma corteza. (Albin et al., 1989; DeLong, 1990; Penney & Young, 1983) (Figura 1).

De acuerdo con el modelo canónico de los NdB, se requiere un balance preciso en la actividad de ambas vías para la generación de movimiento normal. El correcto equilibrio entre ambas determinaría la ejecución del movimiento voluntario de manera coordinada. Bajo este paradigma, la corteza cerebral es la responsable de excitar las neuronas de proyección estriatales (MSN), mientras que las proyecciones nigroestriatales cumplen la función de modular la excitabilidad de estas mismas MSN (Surmeier et al., 2007).

En los pacientes con EP, la muerte de neuronas dopaminérgicas produce un desbalance en el funcionamiento de los NdN. La pérdida de neuronas dopaminérgicas

en la sustancia nigra afecta directamente la excitabilidad de las MSN, perdiéndose la sintonía existente entre la actividad de la vía directa y la vía indirecta. En modelos animales se ha podido corroborar que la inducción de parkinsonismo se asocia a un incremento de la actividad de la vía indirecta y la reducción de la actividad de la vía directa (Bergman et al., 1990). Estas observaciones sobre la hiperactividad de la vía indirecta e hipoactividad de la vía directa han servido como sustento teórico para explicar los síntomas motores de la EP.

A pesar de las décadas de estudio y los numerosos intentos por detener o revertir la patología, no se ha encontrado una cura para la EP. Los tratamientos disponibles buscan controlar los síntomas de la enfermedad, dentro de los cuales la suplementación farmacológica con precursores de la dopamina sigue siendo la alternativa terapéutica más utilizada. A este tratamiento farmacológico se han sumado estrategias terapéuticas neuromoduladoras que han demostrado efectividad.

Entre estas técnicas, la más conocida es la estimulación cerebral profunda (DBS). La DBS busca modular la actividad neuronal en el circuito motor por medio de pulsos de corriente entregados de manera crónica sobre los núcleos de la base, específicamente sobre el núcleo STN o Gpi (Okun, 2012). Esta técnica se comenzó a utilizar a principios de los años 70 y sigue siendo hasta el día de hoy una alternativa complementaria al manejo farmacológico tradicional (Elkouzi et al., 2019; Habets et al., 2018).

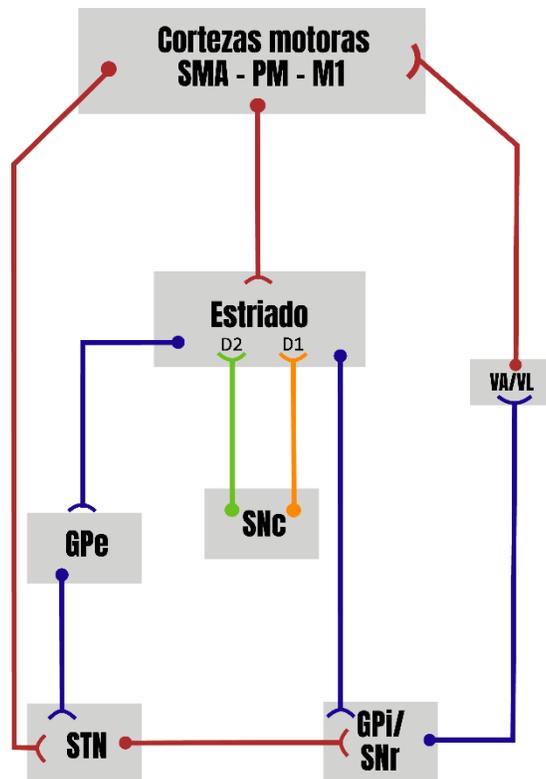


Figura 1: Modelo del circuito motor de los núcleos de la base.

Líneas rojas: sinapsis glutamatérgicas.

Líneas azules: sinapsis GABAérgicas.

Líneas delgadas verde/amarillo: Sinapsis dopaminérgicas.

SNc: sustancia nigra pars compacta.

STN: núcleo subtalámico.

GPe: Globo pálido externo.

GPi: Globo pálido interno.

SNr: Sustancia nigra pars reticulada.

VA: núcleo ventral anterior.

VL: núcleo ventral lateral.

D1: receptores dopaminérgicos D1.

D2: receptores dopaminérgicos D2

La DBS en EP ha mostrado buenos resultados reduciendo la rigidez y bradicinesia (Bronte-Stewart et al., 2009), pero no tiene el mismo grado de éxito reduciendo la inestabilidad postural, pudiendo incluso aumentar esta inestabilidad (Okun, 2012). Además, la DBS posee la desventaja de ser una técnica altamente invasiva y que no está ajena a complicaciones (Bronstein et al., 2011; Okun, 2012). En búsqueda de alternativas de neuromodulación menos invasivas utilizables en un número mayor de personas y que fuesen igual o más efectivas que la DBS se comenzaron a investigar otros blancos terapéuticos.

En este contexto surgió evidencia que mostró que la médula espinal era un potencial sitio de estimulación con efectos terapéuticos en EP. La estimulación eléctrica de la médula espinal (desde ahora abreviado como EME) surgió a principios de la década de los 70 para el tratamiento del dolor crónico (Shealy et al., 1970) y consiste en la entrega de pulsos eléctricos sobre los cordones posteriores de la médula espinal. De la misma manera que la electroanalgesia no invasiva, la EME sobre los

cordones posteriores de la médula espinal se basaba en la teoría de la compuerta o “gate control” de Melzack y Wall (Linderoth & Foreman, 1999; Melzack & Wall, 1994)

El estudio de la EME como estrategia terapéutica para la EP surge el año 2009 de estudio en modelos animales murinos, ratones y ratas, lesionados con 6-OHDA (Fuentes et al., 2009). Este estudio demostró que la estimulación epidural reducía la magnitud de los signos motores y modificaba la actividad eléctrica de los núcleos de la base y la corteza cerebral en los animales lesionados con 6-OHDA. Posteriores estudios en animales han indagado los efectos de la EME en ratas lesionadas con alfa synucleina (Brys et al., 2016) y primates lesionados con 6-OHDA (Santana et al., 2014) con positivos resultados.

La prometedora evidencia surgida en modelos animales condujo a que comenzara a estudiarse el efecto de la EME en humanos. El primer reporte en pacientes surgió el año 2012 de un estudio donde se evaluó a un paciente que se encontraba bajo tratamiento con EME por dolor crónico y que conjuntamente padecía EP. Se evaluó la sintomatología del paciente con el estimulador apagado versus encendido, evidenciándose una significativa mejora en su desempeño motor que ocurría durante la estimulación de la médula espinal (Fénelon et al., 2012).

Posteriormente ha surgido más evidencia a favor de la EME en humanos. En pacientes que se encontraban bajo tratamiento con DBS y que recibieron adicionalmente un implante de EME, se pudo objetivar una significativa reducción de la inestabilidad postural, asociado a mayor velocidad y estabilidad en la marcha cuando la EME era aplicada (Pinto de Souza et al., 2017). En la actualidad existen más ensayos clínicos siendo llevados a cabo, en algunos de los cuales ya se han reportado positivos resultados en la reducción de la sintomatología motora (Samotus et al., 2018).

Las alteraciones motoras y la mejoría observada con distintas estrategias terapéuticas, incluyendo la EME, ha sido asociada a la regulación de la actividad eléctrica cerebral (Fuentes et al., 2009; Heimer et al., 2002; Kühn et al., 2006a). Existe evidencia, tanto de estudios en modelos animales como de registros electrofisiológicos

intra-quirúrgicos que se realizan durante la implantación de electrodos de DBS, de que la EP se asocia a alteraciones en la actividad eléctrica del circuito cortico-basal (Bronte-Stewart et al., 2009; Brown et al., 2001; Kühn et al., 2006b).

La actividad eléctrica de las neuronas a nivel local genera cambios en el potencial extracelular, lo cual posee un efecto sumatorio que puede ser registrado mediante electrodos implantados en el tejido. La sumatoria de la actividad se obtiene del componente de baja frecuencia ($< \sim 300$ Hz) del registro extracelular, y es denominado potencial de campo local (LFP) (Buzsáki et al., 2012). El LFP posee propiedades oscilatorias, las cuales se cree constituyen un mecanismo de comunicación entre neuronas distantes (Buzsaki, 2004).

Las propiedades oscilatorias del LFP pueden ser analizadas por intervalos o bandas de frecuencias. Los primeros reportes de alteraciones en la actividad oscilatoria en primates de EP mostraron un incremento de las oscilaciones de baja frecuencia (< 30 Hz) en los núcleos subtalámico, globo pálido interno (Bergman et al., 1994; Nini et al., 1995). Posteriormente ha surgido evidencia mostrando un incremento de esta actividad oscilatoria en áreas como la corteza cerebral de ratas lesionadas con 6-OHDA (Mallet et al., 2008). Estas oscilaciones anormales se han asociado a la deficiencia dopaminérgica y podían ser revertidas con la administración de agonistas dopaminérgicos (Brown et al., 2001). Dichos hallazgos contribuyeron a que se considerasen las oscilaciones entre 11 a 30 Hz , banda conocida como banda Beta, como características de la EP (Gatev et al., 2006).

Se ha propuesto que existe una dependencia entre esta actividad oscilatoria considerada “patológica” y la actividad dopaminérgica, lo cual ha sido reforzado por la modificación que se genera en la actividad oscilatoria cuando se administra dopamina de manera exógena (Brown et al., 2001). Aunque la visión actual reconoce que existe actividad oscilatoria de baja frecuencia, como Beta, en condiciones normales (Khanna & Carmena, 2015), estas oscilaciones se presentan como episodios frecuentes y de mayor duración en condiciones de parkinsonismo, tanto en modelos animales como humanos (Deffains et al., 2018; Little et al., 2012). Estrategias terapéuticas como la suplementación farmacológica con precursores de la dopamina y neuromodulación

generan una reducción en las oscilaciones de baja frecuencia asociado al fenómeno de mejoría motora (Brown et al., 2001; Kühn et al., 2006a; Okun, 2012).

La EME como estrategia neuromoduladora también ha demostrado reducir las oscilaciones de baja frecuencia en el circuito cortico-basal de la mano con la mejoría en la sintomatología motora en modelos animales (Fuentes et al., 2009; Santana et al., 2014). Aunque la evidencia muestra que la EME puede modificar la actividad eléctrica en áreas como el núcleo estriado y la corteza motora, el mecanismo que sustenta estas modificaciones centrales se desconoce.

Se ha propuesto que una vía por la cual la EME podría cambiar la actividad a nivel de NB, con las consecuencias conductuales y electrofisiológicas que conlleva, sería por medio de la corteza cerebral. Desde los cordones posteriores se reclutaría la vía lemniscal-medial, llegando la información al tálamo ventro-postero-lateral y desde allí a la corteza cerebral. Siguiendo el modelo canónico de los núcleos de la base, el núcleo estriado es el origen de la vía directa y la vía indirecta de control del movimiento, y son las proyecciones cortico-estriatales las encargadas de excitar estas vías. La EME alcanzaría la corteza cerebral y por medio de las proyecciones cortico-estriatales y podría restaurar la actividad eléctrica en estriado y el resto de los NdB (de Andrade et al., 2015).

Este modelo propuesto por de Andrade se sustenta en el modelo canónico de los núcleos de la base, donde las proyecciones excitatorias al estriado provienen desde la corteza cerebral, y no toma en consideración las proyecciones excitatorias provenientes desde el tálamo. La existencia de proyecciones tálamo-estriatales se encuentra descrita hace décadas (Albin et al., 1989; Jones & Leavitt, 1974; Y. Smith & Parent, 1986), sin embargo el conocimiento que tenemos de la anatomía de estas proyecciones no es equiparable al conocimiento que tenemos de su rol funcional.

Sobre las proyecciones tálamo estriatales conocemos que se originan en el complejo centro-mediano/parafascicular (CM/Pf), perteneciente al grupo de núcleos intralaminares caudales talámicos y corresponden a proyecciones de tipo glutamatérgicas (Haber, 2003; Yoland Smith et al., 2004). A diferencia de las

proyecciones cortico-estriatales, que forman sinapsis axo-espinosas con las MSN, las proyecciones tálamo-estriatales forman sinapsis axo-dendríticas con las MSN y con interneuronas gabaérgicas y colinérgicas del estriado. (Yoland Smith et al., 2014). Las proyecciones del complejo CM/Pf se dirigen mayoritariamente hacia el estriado pero existe una menor proporción de proyecciones que se dirigen a los núcleos STN, GPe, GPi y SNr (Féger et al., 1994; Sadikot et al., 1992).

En la actualidad sabemos que las proyecciones cortico-estriatales y las tálamo-estriatales poseen similar número de conexiones anatómicas con las MSN de la vía directa como con las de la vía indirecta (Huerta-Ocampo et al., 2014). Durante la última década ha resurgido el interés por comprender el rol de la vía tálamo estriatal dentro del circuito motor. Los modelos más actualizados de los NB (Figura 2) consideran las proyecciones tálamo-estriatales como otra vía de entrada al circuito motor de los NdB (Deffains & Bergman, 2019; Lanciego et al., 2012) y ha surgido evidencia que corrobora que las proyecciones tálamo estriatales están directamente involucradas en procesos motores. Particularmente se ha demostrado que estas proyecciones son necesarias para la realización de movimientos fluidos y la iniciación de secuencias motoras (Díaz-Hernández et al., 2018).

Algunos autores han postulado que las interneuronas en el estriado podrían jugar un papel relevante en el incremento de la actividad oscilatoria de baja frecuencia (Damodaran et al., 2015). Dentro del grupo de interneuronas estriatales, las interneuronas colinérgicas reciben directamente inputs desde el tálamo y es precisamente este grupo de interneuronas las que al ser estimuladas optogenéticamente producen cambios en la actividad oscilatoria estriatal además de cambios conductuales compatibles con los síntomas de la enfermedad de Parkinson (Kondabolu et al., 2016).

Sumado a esta evidencia, existen recientes reportes de la que en modelos de Parkinson la hiperactividad de la vía directa estaría favorecida por las neuronas colinérgicas y que la actividad de estas se vería afectada por la estimulación de las proyecciones tálamo estriatales (Tanimura et al., 2019).

La EME se realiza sobre los cordones posteriores de la médula espinal, por cuanto es esperable que su efecto alcance el tálamo a nivel del núcleo VPL, punto de relevo de la vía somatosensorial. Desde el VPL no existen proyecciones anatómicas conocidas hacia el complejo CM/Pf, sin embargo, existe evidencia que respalda que el complejo CM/Pf responde a estímulos somatosensoriales, además de visuales y auditivos (Matsumoto et al., 2012).

Las aferencias que recibe el complejo CM/Pf provienen de múltiples orígenes, incluyendo áreas corticales, subcorticales, y cerebelo (Yoland Smith et al., 2014). Está demostrado que existen dos circuitos paralelos entre el núcleo parafascicular y la corteza cerebral: un circuito cortico-tálamo-cortical y un circuito cortico-estriado-parafascicular. En este circuito cortico-parafascicular-estriatal, neuronas que se proyectan desde corteza cerebral forman sinapsis en el núcleo Pf con neuronas que proyectan directamente hacia el estriado, además existe conectividad recíproca entre las áreas laterales del núcleo parafascicular con la corteza somatosensorial primaria (Mandelbaum et al., 2019).

Junto con los circuitos provenientes desde la corteza cerebral, el núcleo Pf recibe aferencias del colículo superior. El colículo superior es otra estructura de

naturaleza multimodal, sobre la que convergen proyecciones desde cortezas visuales, auditivas y somatosensoriales (Wallace et al., 1993) y a través de sus proyecciones sobre el núcleo Pf, podría modificar la actividad eléctrica de este núcleo. Junto con esto, el colículo superior recibe proyecciones directas desde la sustancia nigra pars (Hikosaka & Wurtz, 1983), el que es parte del circuito motor de los núcleos de la base.

Recordando que un 50% de las proyecciones que recibe el estriado provienen desde el núcleo Pf (Doig et al., 2010), cualquier modificación en la actividad eléctrica del Pf podría resultar en cambios en el núcleo estriado. Estando demostrado que el núcleo Pf responde a estímulos somatosensoriales (Wallace et al., 1993), es posible que la EME modifique la actividad eléctrica en este núcleo a través de las proyecciones que recibe desde corteza somatosensorial o a través de un circuito más largo que involucre las proyecciones desde la corteza somatosensorial al colículo superior y desde allí al parafascicular. Coherentemente con la visión que propone al núcleo estriado como potencial responsable de los efectos terapéuticos de la EME (de Andrade et al., 2015), planteamos que la EME recluta tanto a la vía tálamo estriatal como la cortico estriatal, siendo el núcleo parafascicular una estructura que sufriría cambios en su actividad eléctrica durante la aplicación de un protocolo de EME.

HIPÓTESIS

El estado parkinsoniano inducido por lesiones neurotóxicas en el modelo de 6-OHDA se asocia a cambios en la actividad oscilatoria del núcleo parafascicular, además de incrementos en la potencia espectral en banda beta en el circuito cortico-estriatal. La aplicación de estimulación eléctrica en la médula espinal restablece la actividad oscilatoria alterada del circuito corteza-estriado-parafascicular e incrementa la actividad motora de los animales.

OBJETIVO GENERAL

Establecer los cambios en la actividad neural del circuito cortico-estriado-parafascicular y en la actividad motora asociados a la estimulación medular en ratas lesionadas con 6-OHDA.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer una métrica de la actividad motora de los animales en condición normal y parkinsonismo.
2. Caracterizar la actividad oscilatoria en el núcleo parafascicular, corteza motora y núcleo estriado dorsolateral asociada a la conducta motora de los animales tanto en la condición control como en la condición de parkinsonismo.
3. Identificar los cambios en la actividad motora y la actividad oscilatoria en el núcleo parafascicular, corteza motora y estriado dorsolateral derivados de la estimulación eléctrica de la médula espinal en parkinsonismo.
4. Identificar los cambios en la actividad evocada en el núcleo parafascicular, corteza motora y estriado dorsolateral derivados de la estimulación eléctrica de la médula espinal en parkinsonismo.

MÉTODOS

Animales

Para el desarrollo de este proyecto, se utilizaron 8 ratas adultas normales, Sprague-Dawley, de 350-450 gr. de peso a las cuales se les indujo la condición de parkinsonismo neurotóxico por medio de la administración estereotáxica de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) en el núcleo estriado de manera bilateral. Los animales se distribuyeron en un grupo control SHAM (n=4) y un grupo 6-OHDA (n=4).

Este estudio cuenta con la aprobación del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA), protocolo CBA 1009 FMUCH.

Electrodos de registro

Se diseñaron 2 arreglos de electrodos de registro consistentes en alambres de tungsteno configurados espacialmente de manera que alcancen las áreas blanco, y dispuesto de manera de ser implantados paralelo al plano coronal (Figura 3)

Los electrodos se distribuyeron de la siguiente manera:

- Núcleo Parafascicular del tálamo (Pf): 7 canales por hemisferio
- Corteza Motora (Caudal forelimb área, CFA): 9 canales por hemisferio
- Núcleo estriado dorsolateral (STR): 7 canales por hemisferio

Electrodos medulares

Se construyeron electrodos de estimulación medular, consistentes en dos placas de platino de 3.5 mm x 1 mm soldadas a alambres ultraflexibles de acero inoxidable, embebidas en silicona quirúrgica. Se dispuso una seda quirúrgica entre ambas placas para la fijación del electrodo en las vértebras adyacentes al segmento implantado (Figura 3).

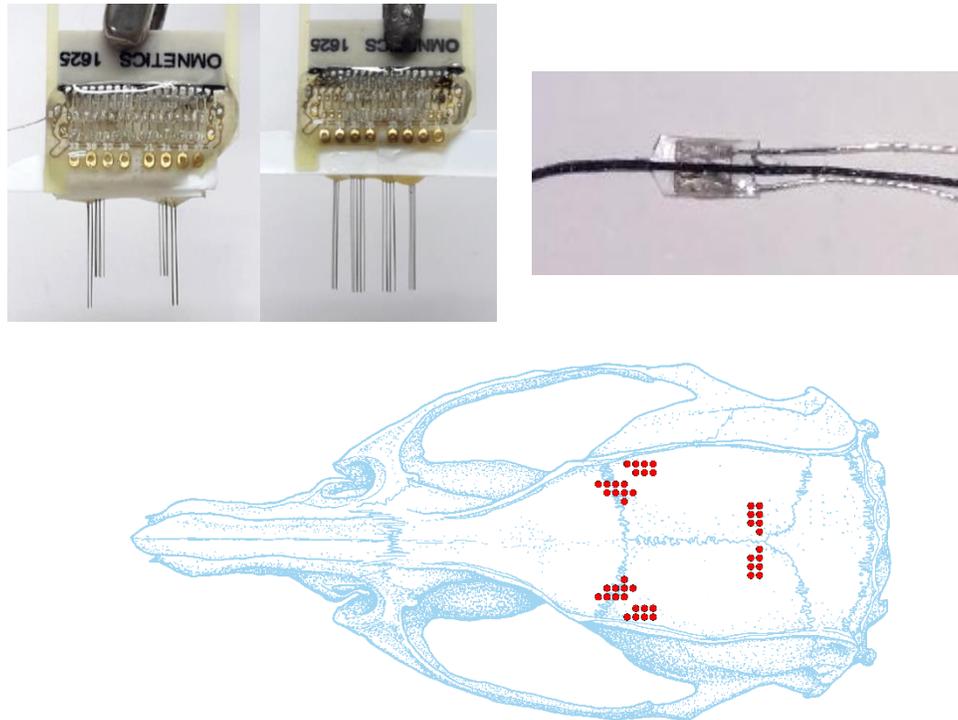


Figura 3. Fila superior. Izquierda: electrodos de registro de tungsteno; Derecha: electrodo de estimulación medular. Fila inferior. Diagrama de electrodos proyectados en cráneo de rata

Cirugías

Cada animal fue sometido a 3 cirugías para la lesión, implante de electrodo de registro e implante del electrodo de estimulación (Figura 4).

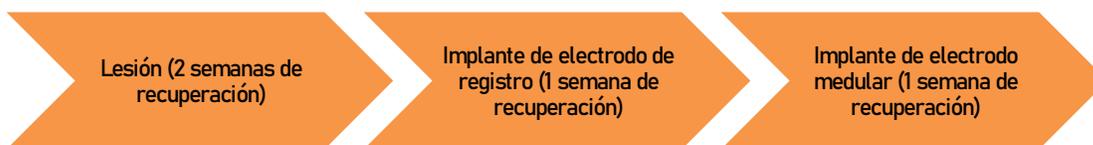


Figura 4: Diagrama de flujo de las cirugías a las que fue sometido cada animal.

Las cirugías se realizaron bajo anestesia con gas isoflurano al 3% para inducción y 1 a 1,5% para la mantención. Posterior a la cirugía se siguió un protocolo de analgesia basado en la administración de AINES (Ibuprofeno) y analgésicos opioides (tramadol).

1. Lesión con 6OHDA

Para la lesión con 6OHDA en el estriado bilateral se realizaron 3 perforaciones sobre el cráneo en las coordenadas estereotáxicas antero-posterior, medio-lateral y dorso-ventral (1) 1.0, \pm 3.0, -5.0; (2) -0.1, \pm 3.7, -5.0; (3) -1.2, \pm 4.5, -5.0. Se administraron un total de 20 μ g de 6-OHDA en solución salina con 0.1% de ácido ascórbico a una concentración de 3,3 mg/ml en cada estriado de los animales del grupo lesión, 2 μ l de solución por inyección. Los animales del grupo control fueron sometidos al mismo procedimiento, donde se inyectó el mismo volumen de solución salina con ácido ascórbico al 0.1%.

Posterior a la lesión bilateral con 6-OHDA se produce afagia y adipsia, lo que puede traducirse en una reducción excesiva de peso e incrementar la mortalidad de los animales (U. Ungerstedt, 1971). Se implementó un protocolo de suplementación alimenticia con mantequilla de maní y leche condensada, e hidratación por vía parenteral por 5 a 10 días posterior a la cirugía. Este protocolo redujo las complicaciones postquirúrgicas derivadas de la lesión.

2. Implante de electrodo de registro

Se realizaron perforaciones a nivel del cráneo bajo la guía estereotáxica y se removió cuidadosamente la duramadre. El electrodo implantado se fijó con acrílico dental. Durante el período de realización de las cirugías se implementó el procedimiento de punción de la cisterna magna previo a la realización de las craneotomías, con objeto de disminuir el riesgo de edema cerebral e hipertensión intracraneana (Neafsey et al., 1986).

3. Implante de electrodo medular

El electrodo de estimulación fue implantado en el espacio epidural a la altura del segmento medular T4. Para este procedimiento se realizaba la pseudo-laminectomía vertebral de los segmentos adyacentes y se fijó el electrodo por medio de la sutura quirúrgica a las vértebras adyacentes. Los cables de estimulación se

posicionaron de manera subcutánea en la zona dorsal y el conector para el electrodo medular se fijó sobre el cráneo utilizando acrílico dental.

Protocolo de estimulación

Se configuró un protocolo de estimulación consistente en pulsos cuadrados bifásicos de 500 μ s de duración, y se establecieron 4 frecuencias de estimulación a probar: 30,60,130 y 300 Hz (Figura 5).

La intensidad de estimulación se determinó para cada sesión: Los animales se eran conectados a los dispositivos de registro y estimulación, y eran estimulados con un tren de pulsos de 1 segundo con la misma frecuencia que se utilizaría durante la sesión. La intensidad se aumentaba de manera gradual hasta que se observaba un cambio conductual, manifestado como un movimiento de vibrisas, de cabeza o el cuerpo, y que era consistente con el momento de la estimulación.

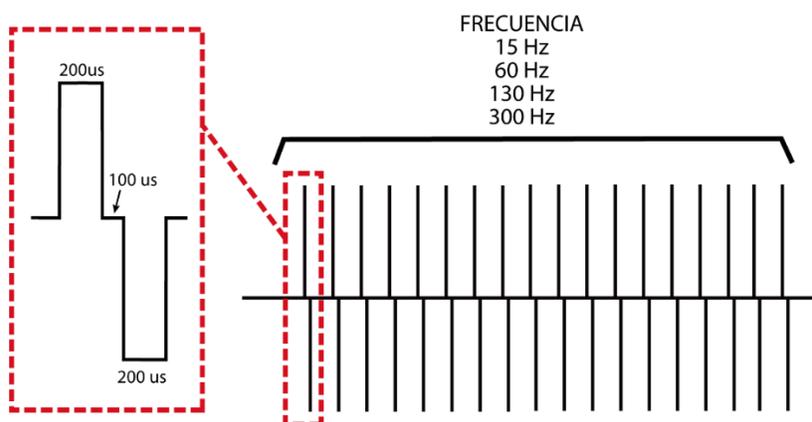


Figura 5: diagrama del protocolo de estimulación y la forma de pulso utilizada

Protocolos de registro

Para el registro electrofisiológico y estimulación, los animales fueron colocados en una caja transparente de 32 x 25 x 30 cm donde podían desplazarse libremente. Cada animal fue registrado una vez al día con una frecuencia de 3 veces por semana.

El protocolo de registro consistió en 15 minutos de registro pre-estimulación, seguidos de 15 minutos de registro y estimulación y luego 15 minutos de registro post estimulación (Figura 6).

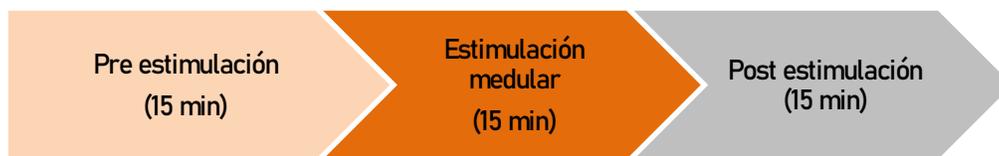


Figura 6: Diagrama de flujo de una sesión de registro tipo.

Procesamiento electrofisiológico

Para la adquisición del registro electrofisiológico se utilizó la placa de adquisición Open Ephys® y el software de registro “Open Ephys Gui” a una frecuencia de muestreo de 30 KHz. La señal se re-muestreó de 30KHz a 1000Hz. Los canales con mala señal fueron eliminados de manera automatizada, realizando un análisis de correlación entre pares de canales dentro de cada área. Los canales que presentaban correlaciones equivalentes al azar, con un umbral de 0,65 como punto de corte, fueron removidos. Posteriormente, se re-referenció cada canal sustrayendo la señal promedio de todos los canales pertenecientes a la misma área.

Análisis de actividad oscilatoria

La señal de LFP procesada se dividió en ventanas de 1 segundo, con pasos de 0,5 segundos. Se removieron automáticamente los artefactos con una diferencia peak a peak de más de 1mV y las señales planas. Se calculó la densidad de potencia espectral (PSD) con el método de multitaper en el rango de frecuencia de 0,5 a 80 Hz, en intervalos de 1 Hz. Se escogió utilizar múltiples DPSS tapers (discrete prolate spheroidal sequences, 3 tapers). Los valores de PSD fueron transformados a decibeles (dB) aplicando el logaritmo natural multiplicado por 10.

Análisis de actividad evocada

Para el análisis de la actividad evocada se tomaron ventanas de tiempo alrededor de cada pulso de corriente. Se sustrajo la mediana de todos los canales a cada canal. Para establecer la magnitud de la respuesta post pulso de corriente en relación al período pre-pulso se estandarizó cada canal a un z score. Se promedió la señal de potencial de campo local de todas las ventanas de cada registro. El tamaño de las ventanas se definió de acuerdo con el período asociado a la frecuencia de

estimulación. Para cada frecuencia utilizada se seleccionaron las siguientes ventanas descritas en la tabla 1.

Frecuencia	Tiempo previo al pulso	Tiempo posterior al pulso
15 Hz	10 ms	60 ms
60 Hz	20 ms	60 ms
130 Hz	12 ms	40 ms
300 Hz	8 ms	25 ms

Tabla 1: Ventanas de tiempo para análisis de actividad evocada según frecuencia de estimulación

Registro y procesamiento de señales de aceleración

Las placas preamplificadoras (Intan® RHD2132 amplifier/accelerometer board) que se unen a los conectores implantados en el animal poseen sensores de aceleración que registran los cambios de velocidad en 3 ejes de movimiento (x,y y z). Esta señal es registrada y almacenada con la misma frecuencia de muestreo de 30KHz de la señal electrofisiológica.

La señal obtenida de los acelerómetros se dividió en ventanas de 1 segundo. Para el rango de frecuencia de señal de 1 a 45 Hz, se calculó el PSD promedio de cada eje de movimiento (x,y y z). Se promediaron los PSD de los 3 ejes, obteniéndose un único valor por ventana, el que denominamos “índice motor” (“motion index” en inglés).

Para compensar las diferencias sutiles en la posición de los acelerómetros que podrían ocurrir en cada registro de cada animal, se normalizaron los valores individuales de índice motor en un espacio común. Se utilizó una técnica no paramétrica para la estimación de la función de densidad mediante el uso de un kernel gaussiano. Se tomó el primer peak de probabilidad de la función de densidad de probabilidad como el valor de normalización, el cual se sustrajo de los valores individuales de índice motor. De esta forma, para cada animal, el primer peak de la densidad siempre se posicionó en el valor 0 de índice motor.

Análisis de velocidad instantánea

Para el cálculo de la velocidad instantánea se utilizó el registro en video obtenido, el cual se procesó mediante el algoritmo de seguimiento de posición del programa Bonsai (Figura 7), el cual expresa el desplazamiento en pixeles por unidad de tiempo.

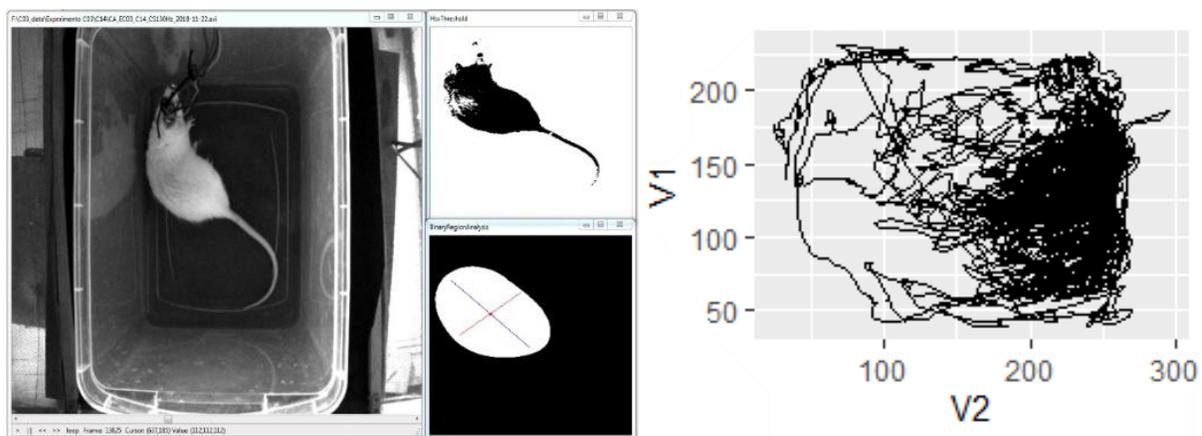


Figura 7. Ejemplo representativo del seguimiento del movimiento del animal realizado mediante el programa Bonsai. Izquierda: detección del desplazamiento del animal mediante el uso de programa Bonsai. Derecha: Mapa de los desplazamientos del animal en base a las coordenadas detectadas.

Inmunohistoquímica

Los animales fueron anestesiados con una dosis de ketamina (100 mg/Kg) y Xilacina (10 mg/Kg) y se realizó la perfusión transcardíaca con 0.9% de solución salina y 4% de para formaldehído (PFA). Se removieron los cerebros y se fijaron en PFA al 4% por 24 horas a 4°C. Se realizaron los cortes coronales en criostato en secciones de 30 μm .

Se inactivó la peroxidasa endógena utilizando una solución de peróxido de hidrógeno 0.3% por 30 min a temperatura ambiente. Se lavó la muestra repetidamente en una solución de tampón fosfato salino (PBS). Las muestras se incubaron en una solución de bloqueo (BSA 0.5% + Triton 0.2% en PBS) por una hora a temperatura ambiente. Se incubaron las muestras con un anticuerpo primario (Anticuerpo policlonal

Anti-tirosina hidroxilasa, Merck, Cat # Ab152; 1:1.000) en la misma solución de bloqueo, durante toda una noche a 4°C.

Al siguiente día, se lavaron las muestras en PBS y se incubaron con el anticuerpo secundario biotinilado por 2 horas a temperatura ambiente, seguido por el complejo Vectastain ABC-peroxidasa (vector Labs, cat PK- 4001) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Finalmente, las secciones se tiñeron con 3,3' diaminobencidina (Sigma Cat #D5905) en tampón Tris (Sigma Cat #T5030) por 4 -5 minutos, de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Se montaron los cortes coronales en placas y se digitalizaron las imágenes utilizando un scanner Epson L355 (8 bits, resolución de 4800 dpi). Se analizaron 12 cortes por animal para obtener una cuantificación representativa del estriado. Se calculó la densidad óptica del estriado utilizando el software ImageJ. Se determinó el porcentaje de pérdida estriatal en los animales lesionados en referencia a la tinción de TH+ en los animales controles.

RESULTADOS

OBJETIVO 1: Establecer una métrica de la actividad motora de los animales en condición normal y parkinsonismo

Resultado: *El índice motor basado en acelerometría es una métrica que discrimina el estado motor de los animales.*

Para determinar el estado motor de los animales, medimos la velocidad instantánea a la que se mueven los animales mediante registro de video, y la aceleración de los animales mediante sensores de aceleración. Con la información de la aceleración se calculó un índice que integra los 3 planos, el que denominamos índice motor.

A diferencia de la velocidad instantánea, que representa principalmente los movimientos de locomoción, el índice motor cuantifica cualquier movimiento realizado por la cabeza del animal en los 3 planos del espacio, permitiendo discriminar la inactividad de cualquier tipo de actividad motora, por ejemplo, movimientos de cabeza o postura erguida, locomoción, etc.

Dado que ambas métricas indican movimiento medido de maneras diferentes, estudiamos la correlación entre el índice motor y la velocidad instantánea en un subgrupo de animales, (grupo 6-OHDA $n=2$, grupo sham $n=2$), registrados durante sesiones de 40 minutos, durante la cual se colocaron objetos para promover el movimiento de los animales.

Al comparar el histograma en dos dimensiones de índice motor y velocidad instantánea, observamos una correlación positiva entre estas variables (ρ de Spearman=0,5; $p<0,001$, Figura 8). Si bien la correlación fue positiva, al analizar la distribución de los datos de los histogramas se obtuvieron diferencias entre ambas variables. La velocidad instantánea mostró una distribución unimodal, (Hartigan Test Dip de unimodalidad, estadístico dip=0,027; $p=0,24$. Figura 8B derecha), mientras que

el índice motor mostró poseer una distribución no unimodal tanto en los animales 6-OHDA como controles (estadístico dip=0,039; p=0,005. Figura 8B, superior).

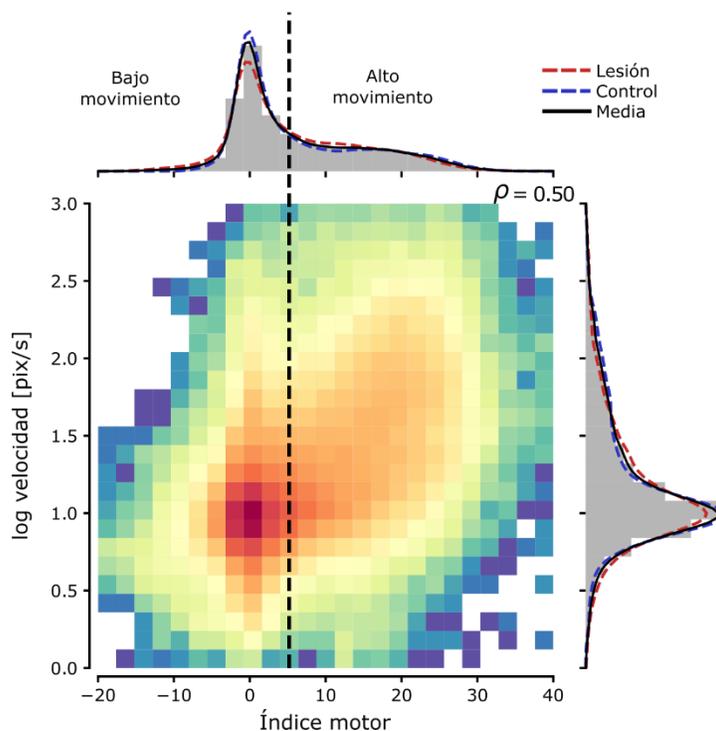


Figura 8: Correlación existente entre la velocidad instantánea expresada en pixeles/segundo y el índice motor. La línea punteada representa el umbral definido para clasificar el índice motor como alto o bajo movimiento. Los histogramas representan la distribución de los datos de índice motor (superior) y de velocidad instantánea (derecha)

Debido a que el índice motor posee características bimodales establecimos que cada peak representaba un estado de movimiento distinto. Para realizar esta categorización se ajustó una curva gaussiana a la primera moda de la distribución y se definió un umbral de dos desviaciones estándar como límite. Se consignó como “bajo movimiento” valores de MI normalizado menores a 5 (del MI normalizado) y “alto movimiento” valores de MI normalizado superiores a 5.

Con el propósito de analizar la velocidad instantánea en base a esta definición de estados de alto y bajo movimiento, realizamos una conversión estimada de las unidades de pixeles/segundo en centímetros/segundo y graficamos su distribución. Al realizar la conversión cuantificamos que la mayoría de los eventos de movimiento se

dan con velocidades menores a 5 cm/s, siendo la velocidad más frecuente 0,9 cm/s (Figura 9).

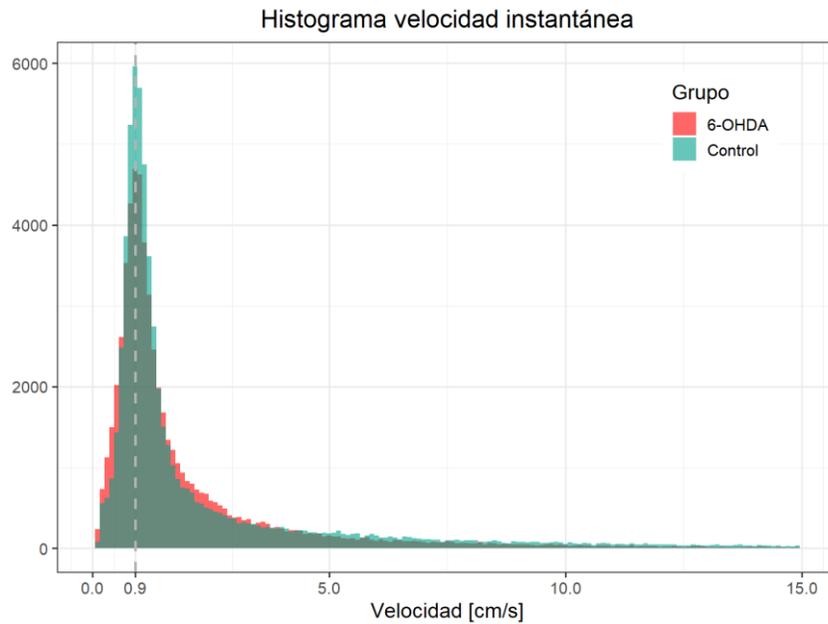


Figura 9: Histograma con la distribución de velocidad para el grupo de animales 6-OHDA y grupo Control.

A pesar de los valores bajos de velocidad instantánea podemos encontrar que para una misma velocidad instantánea existen eventos con disímil índice motor. Esta situación es evidenciada con mayor claridad cuando graficamos el índice motor en función de la velocidad medida en cm/s (Figura 10).

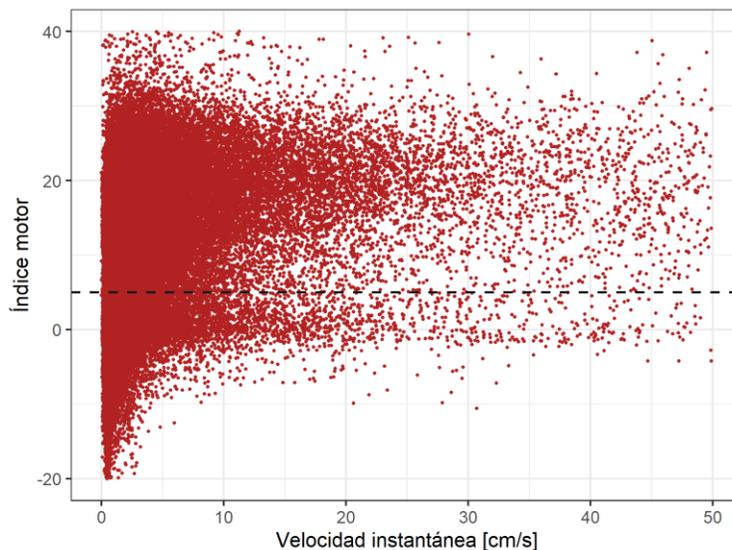


Figura 10: Índice motor según valor de velocidad instantánea para un subgrupo de animales (n=4)

Estas diferencias entre el índice motor y la velocidad instantánea pueden estar dadas por los desplazamientos en el eje vertical. Al graficar la velocidad instantánea de los animales y el índice motor en relación con el tiempo, marcando el umbral de cambio de estado que definimos (índice motor =5), vemos que existen 3 posibles combinaciones: la primera donde tanto el índice motor como la velocidad instantánea del animal indican que el animal se está moviendo; la segunda donde el índice motor y la velocidad instantánea indican que el animal está en reposo, y una tercera combinación donde según el índice motor el animal está en movimiento, pero en reposo según la velocidad instantánea.

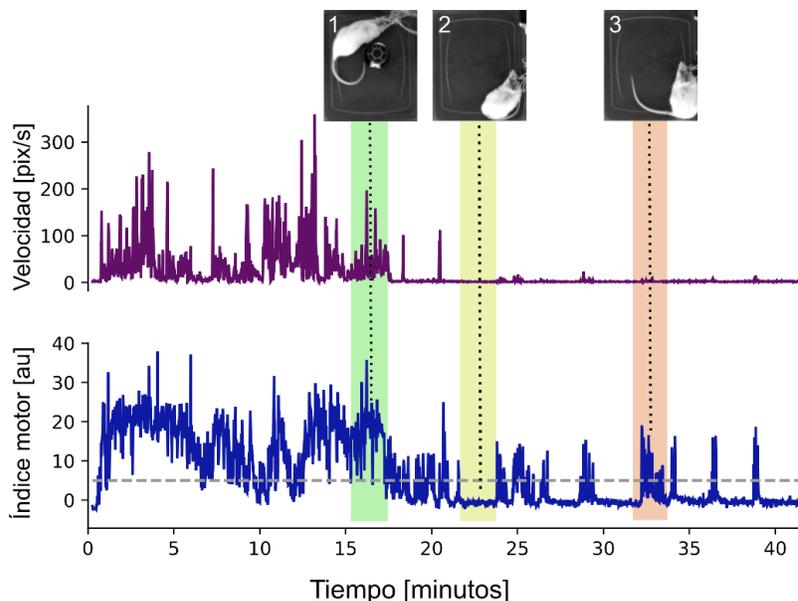


Figura 11: Registro del movimiento de un animal mostrando la variación de índice motor y de velocidad instantánea en el tiempo. La línea punteada gris en el gráfico de índice motor indica el umbral definido para alto versus bajo movimiento

Como se observa en la Figura 11, entre el estado 2 y el estado 3 el animal no cambió su posición espacial, por lo que el movimiento que señala el índice motor está posiblemente dado por movimientos sin desplazamientos detectables mediante el análisis por video.

Considerando la correlación positiva existente entre la acelerometría y la velocidad instantánea, y la capacidad del índice motor de detectar movimientos en todos los planos, aun en ausencia de locomoción, se seleccionó el índice motor como métrica de movimiento para análisis posteriores. A partir del umbral definido a través de la distribución bimodal del índice motor, se establecieron dos estados: inactivo vs activo.

Resultado: Los animales controles y 6-OHDA no presentan niveles diferentes de actividad motora en condiciones de movimiento libre.

El análisis inmunohistoquímico de 2 de los 4 animales lesionados mostró una pérdida promedio de 79.8% de tinción de tiroxina hidroxilasa en neostriado en

comparación con la tinción de animales controles, lo que da cuenta de la efectividad de la lesión por 6-OHDA.

Como se detalla en el protocolo de registro, previo a la estimulación, los animales fueron registrados por 15 minutos en condiciones de movimiento libre. Esta etapa previa a la estimulación se usó para realizar el análisis conductual y electrofisiológico del estado basal de los animales. En dos animales del grupo lesión, además, se realizó el registro de actividad basal bajo el efecto del agonista dopaminérgico levodopa.

Para el análisis de actividad motora basal, se calculó el índice motor de los animales en el tiempo, en ventanas de 1 segundo. Se promediaron los valores de índice motor de todas las ventanas para los 15 minutos de registro y se obtuvo un valor promedio de índice motor para cada categoría: control, lesión, y lesión bajo efecto de levodopa.

En base a este indicador, se determinó que el índice motor del grupo control ($n=4$, media $MI=-160,18$) no difería significativamente del índice motor del grupo 6-OHDA ($n=4$, media $MI=-160,17$), (ANOVA 1 factor, $F(1,39)=0,615$; $p=0,438$). No se comparó estadísticamente con el grupo tratado con Levodopa por ser un grupo solo de 2 animales, que no mostraron un comportamiento consistente ($n=2$, media $MI= -152,66$) (Figura 12).

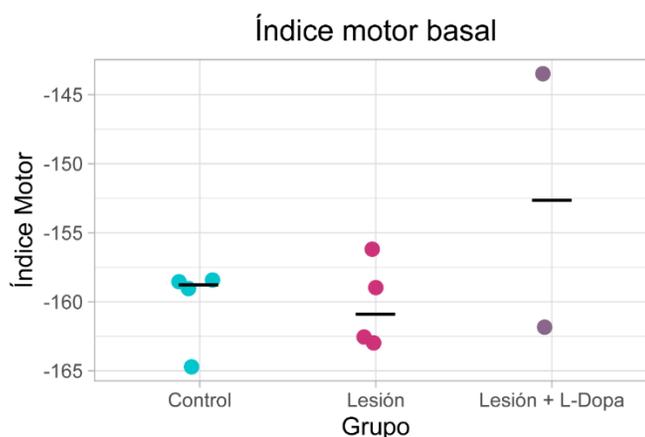


Figura 12: Índice motor por grupo. Línea negra representa la mediana de cada grupo. El grupo Lesión + L-Dopa corresponde a dos animales del grupo lesión a los cuales se les realizaron registros bajo el efecto del fármaco levodopa.

Debido al fenómeno de habituación, con el transcurso de los minutos es esperable que los animales dejen de explorar el entorno y con esto reduzcan su actividad motora, por lo tanto, al promediar los valores de índice motor de una ventana de tiempo de 15 minutos, es posible que las potenciales diferencias en la actividad motora de los animales se diluyan y no sean detectables.

Para identificar si existían diferencias en el tiempo en la conducta motora de los animales durante los 15 minutos de registro en movimiento libre, se analizó la variación del índice motor de los animales por grupo en todos los registros realizados. Este análisis arrojó que los animales controles y los animales 6-OHDA no presentan diferencias en su conducta motora en el tiempo (Figura 13).

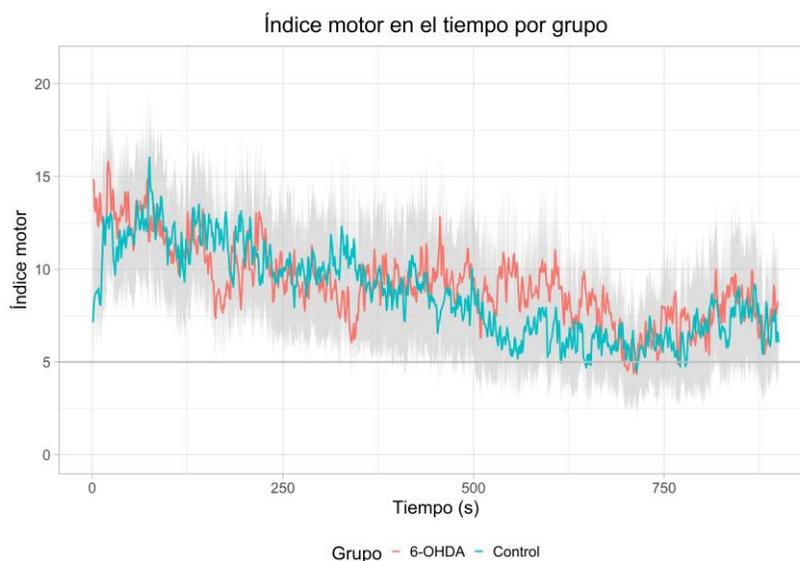


Figura 13. Índice motor en el tiempo. Promedio en el tiempo del índice motor según grupo de todos los registros de cada animal con intervalos de confianza de 95%.

Para contrarrestar el efecto de la habituación que puede existir en el tiempo debido a los registros reiterados, se analizó el índice motor en el tiempo considerando únicamente el primer registro cada animal. Este análisis corroboró que el comportamiento motor no presenta diferencias asociadas al grupo al que pertenecen los animales (Figura 14).

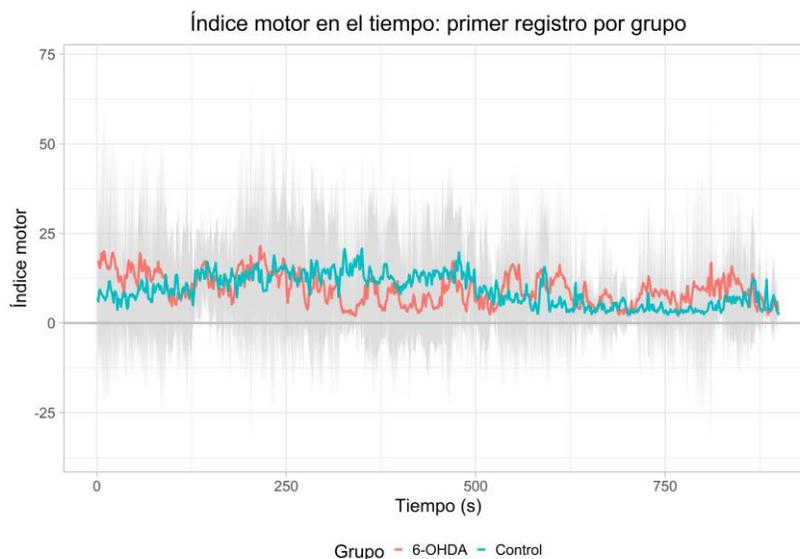


Figura 14. Índice motor en el tiempo. Promedio del índice motor según grupo del primer registro de cada animal con intervalo de confianza del 95%.

En resumen, concluimos que el índice motor es una métrica que permite tanto determinar el nivel de actividad motora de los animales, así como clasificar dos estados de movimiento: activo e inactivo. Además de clasificar según estado de movimiento, pudimos utilizar el índice motor para comparar la magnitud del movimiento de los animales de cada grupo.

OBJETIVO 2: *Caracterizar la actividad oscilatoria en el núcleo parafascicular, corteza motora y núcleo estriado dorsolateral asociada a la conducta motora de los animales tanto en la condición control como en la condición de parkinsonismo*

De la misma manera que en el análisis conductual, para el análisis de la actividad oscilatoria basal, se utilizaron los 15 minutos previos al inicio del protocolo de estimulación de registro la actividad de potencial de campo local en corteza motora (caudal forelimb área, CFA), estriado dorsolateral (STR) y núcleo parafascicular (Pf). Resultados preliminares indicaban que la actividad oscilatoria presentaba incrementos y reducciones de potencia espectral en distintas bandas de frecuencia en animales lesionados (Figura 15, superior).

Para evaluar si el cambio en la actividad oscilatoria se correlaciona al estado motor, se eliminó la organización por la dimensión temporal y se redistribuyeron las ventanas de 1 segundo de acuerdo con el índice motor en un orden ascendente (Figura 15, inferior).

Además, para determinar la relación entre el movimiento y la actividad oscilatoria a distintas frecuencias, se calculó el coeficiente de correlación entre el índice motor y la potencia espectral de la actividad oscilatoria en bandas frecuencia de 1 Hz. Para calcular esta correlación se determinó el coeficiente de Spearman para cada serie de frecuencia vs la potencia espectral, lo que se representó como coeficiente rho de Spearman vs. Frecuencia (Figura 15, izquierda)

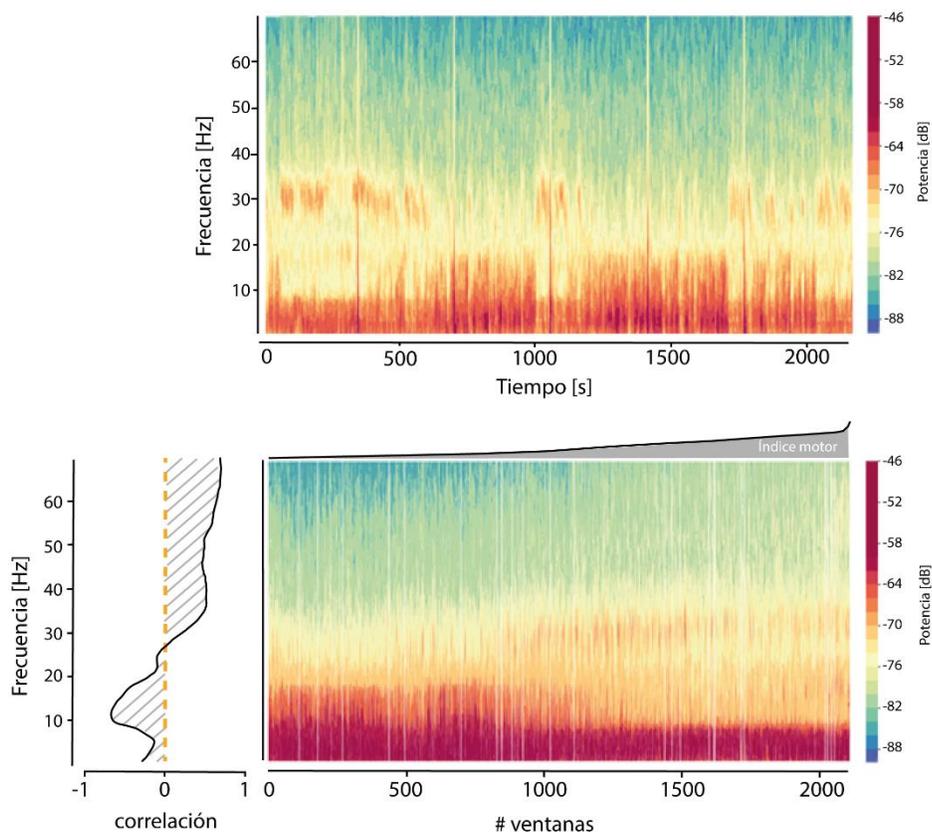


Figura 15. Actividad oscilatoria registrada en la corteza motora derecha (rM1) de un animal lesionado. Superior: magnitud del movimiento de acuerdo con datos de acelerómetros. Inferior: Espectrograma de la actividad oscilatoria según magnitud del movimiento registrado por los acelerómetros. Subgráfico izquierdo: Correlación de Spearman entre bandas de frecuencia y actividad motora registrada a través de acelerómetros.

Resultado: En la corteza motora y estriado dorsolateral, la actividad oscilatoria menor a 30 Hz correlaciona negativamente con el movimiento, mientras que la actividad oscilatoria mayor a 30 Hz correlaciona de manera positiva con el movimiento, tanto en animales lesionados como en animales controles.

A partir de las mediciones de índice motor y la consecuente categorización del estado motor de los animales en activo e inactivo, realizamos la comparación de la actividad oscilatoria observada en cada hemisferio cerebral de todos los animales durante el estado inactivo, versus el estado activo.

Para esta comparación se convirtió la actividad oscilatoria de decibeles a unidades z (z-score), tomando como referencia el promedio de potencia espectral de cada frecuencia en las ventanas correspondientes al estado inactivo. Posteriormente se calculó la correlación existente entre la potencia espectral de cada frecuencia en intervalos de 1 Hz con el índice motor mediante una correlación de Spearman (Figura 16).

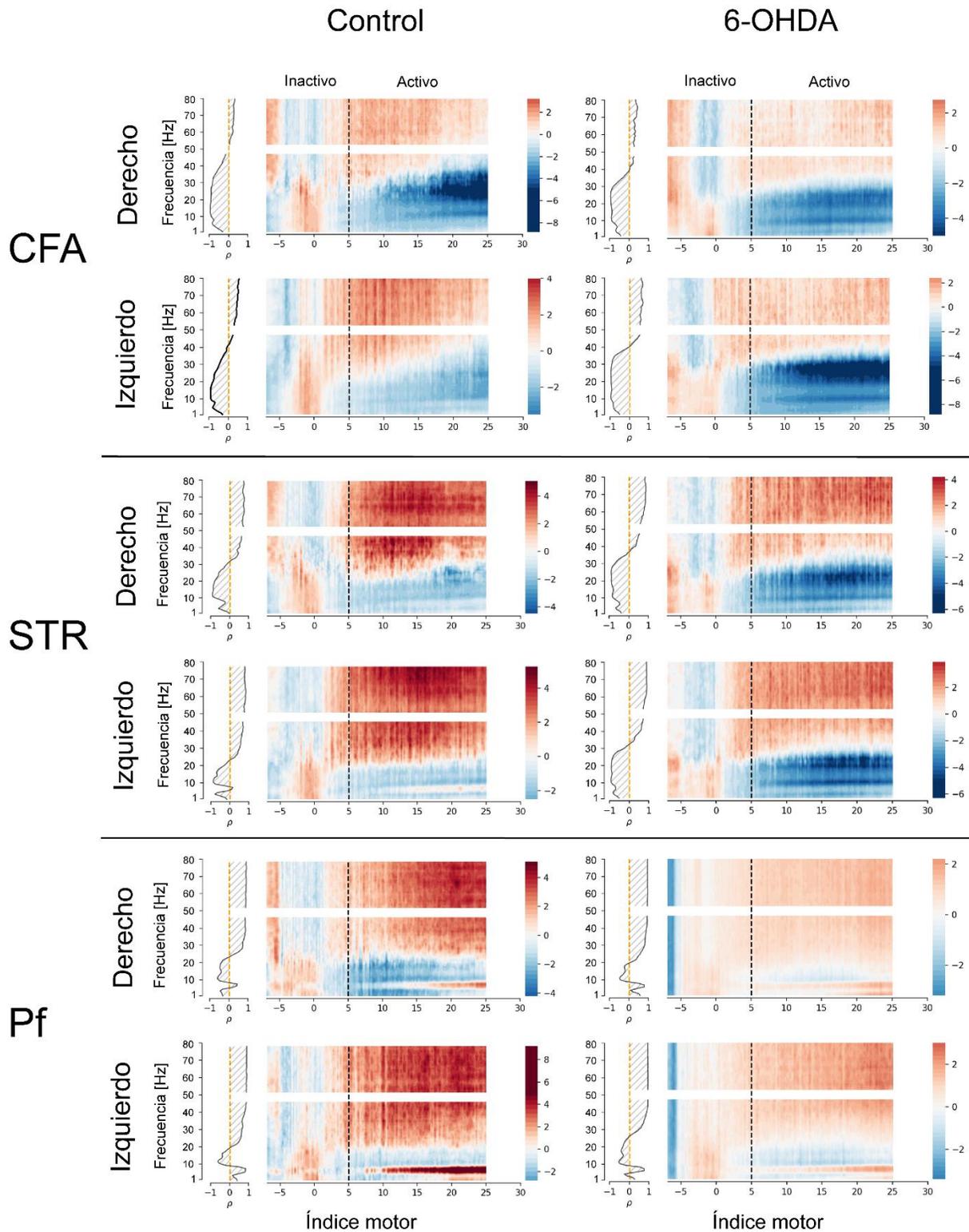


Figura 16. Actividad oscilatoria organizada según índice motor ascendente y expresada en valores de z score para el grupo control y el grupo lesionado (6-OHDA), y correlación de cada frecuencia con el índice motor calculado como coeficiente de Spearman (ρ). CFA: Caudal forelimb area. STR: estriado dorsolateral. Pf: núcleo parafascicular

Tanto para la corteza motora (CFA), como para el núcleo estriado dorsolateral (STR) se observó que la correlación entre la actividad oscilatoria y el índice motor transita de valores negativos en las frecuencias más bajas a valores positivos en las frecuencias más altas. Este fenómeno se mantiene tanto en el grupo de animales 6-OHDA (Figura 17, derecha) como en el grupo de animales controles (Figura 17, izquierda). Particularmente las frecuencias alrededor de los 6 Hz presentaron una correlación menos negativa, cercana a cero en los animales controles en comparación con los animales 6-OHDA (Figura 17, recuadro rojo)

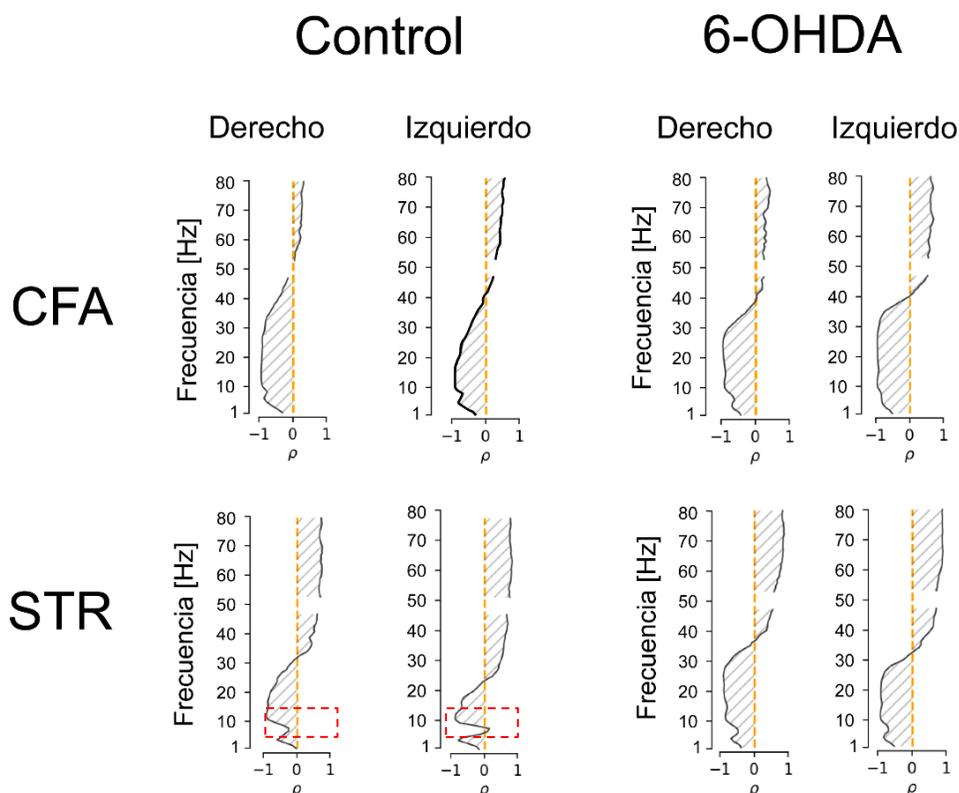


Figura 17. Correlación de cada frecuencia con el índice motor calculado como coeficiente de Spearman (ρ). CFA: Caudal forelimb area. STR: estriado dorsolateral.

Esta correlación entre actividad motora y actividad oscilatoria conservada independiente del estado parkinsoniano de los animales constituye un hallazgo relevante dado que han existido múltiples intentos por utilizar la actividad oscilatoria como biomarcador en el diseño de estrategias terapéuticas, especialmente en el

campo de la estimulación cerebral profunda. Por esta razón los resultados descritos fueron parte importante de la evidencia plasmada en el artículo “Cortico-Striatal Oscillations Are Correlated to Motor Activity Levels in Both Physiological and Parkinsonian Conditions” publicado en *Frontiers in Systems Neuroscience* el 13 de agosto de 2020, siendo la autora de esta tesis primera autora del artículo. Cabe mencionar que en este artículo se incluyeron animales registrados por un grupo colaborador en la universidad de Lund, cuyos resultados se encontraban en la misma línea que los nuestros.

Resultado: Tanto en animales lesionados como animales controles, la actividad oscilatoria de 2 a 8 Hz en el núcleo parafascicular correlaciona de manera positiva con el índice motor

En el núcleo parafascicular por su parte, el comportamiento de la actividad oscilatoria con respecto al índice motor es similar que lo descrito en CFA y STR, con una correlación positiva de las frecuencias superiores a 25 Hz aproximadamente (Figura 18). Aunque las frecuencias menores a 25 Hz poseen una correlación negativa con el índice motor, entre 2 a 8 Hz se observa una transición hacia valores positivos de correlación. Esto queda en evidencia como un incremento progresivo de potencia espectral en la banda de 8 a 12 Hz en el núcleo parafascicular en relación con el índice motor. Este fenómeno se observa tanto en animales lesionados con 6-OHDA como en animales controles (Figura 18, recuadro rojo).

Tanto para los animales del grupo 6-OHDA y grupo control la frecuencia en la que se encontró el peak de correlación con el índice motor estuvo alrededor de los 7 Hz (Figura 19).

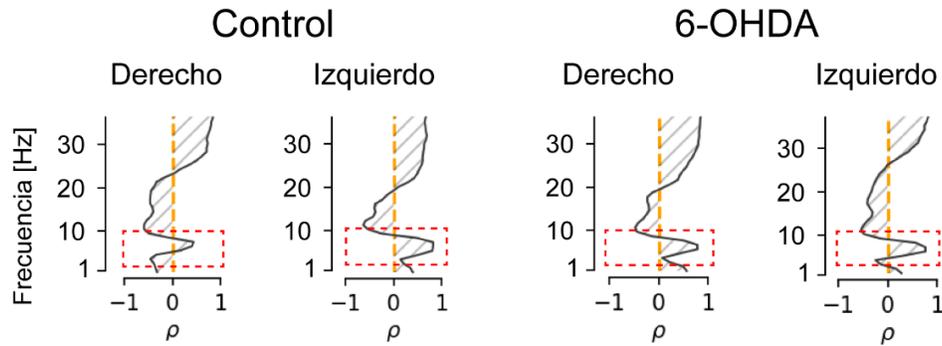


Figura 18. Actividad oscilatoria ordenadas según índice motor y expresada en valores de z score para el grupo control y el grupo lesionado (6-OHDA), y correlación de cada frecuencia con el índice motor calculado como coeficiente de Spearman (ρ). CFA: Caudal forelimb area. STR: estriado dorsolateral. Pf: núcleo parafascicular

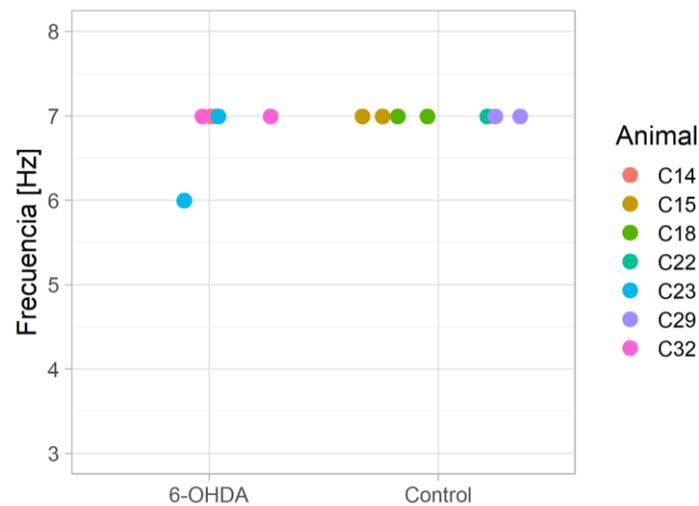


Figura 19: Frecuencia asociada al peak de correlación con el índice motor. Correlación calculada para intervalos de frecuencia de 1 Hz.

Resultado: En la corteza motora (CFA), los animales lesionados versus los controles presentan diferente potencia espectral en las frecuencias de 25 a 45 Hz; mientras que en las frecuencias de 12 a 25 Hz la potencia espectral cambia de acuerdo con el nivel de actividad motora de los animales, tanto en los animales 6-OHDA como en los controles.

Para analizar los cambios en la densidad de potencia espectral en las distintas condiciones experimentales, definimos bandas de frecuencia de interés.

Seleccionamos los puntos de corte de los intervalos alrededor de los valores donde la correlación presentaba un cambio de signo y/o existían diferencias en la correlación.

Las frecuencias menores a 12 Hz se subdividieron en dos bandas de frecuencia alrededor de los 8 Hz por ser el intervalo donde existían diferencias evidentes de correlación al comparar las 3 áreas (Figura 20). Las 5 bandas de frecuencia seleccionadas correspondieron a: 2-8 Hz, 8-12 Hz, 12-25 Hz, 25-45 Hz y 55-90 Hz. Los intervalos de frecuencia de cada una de estas bandas, a excepción de la banda 2-8 Hz, se solapan en gran medida con las bandas de frecuencia clásicas descritas en la literatura: banda alfa (8-10 Hz), banda beta (10-30 Hz), gamma baja 30 a 80 Hz (Buzsaki, 2004). La banda 2-8 Hz corresponde a dos bandas clásicas de distinto tenor, banda delta (aprox. 4 Hz) y theta (aprox. 7 Hz).

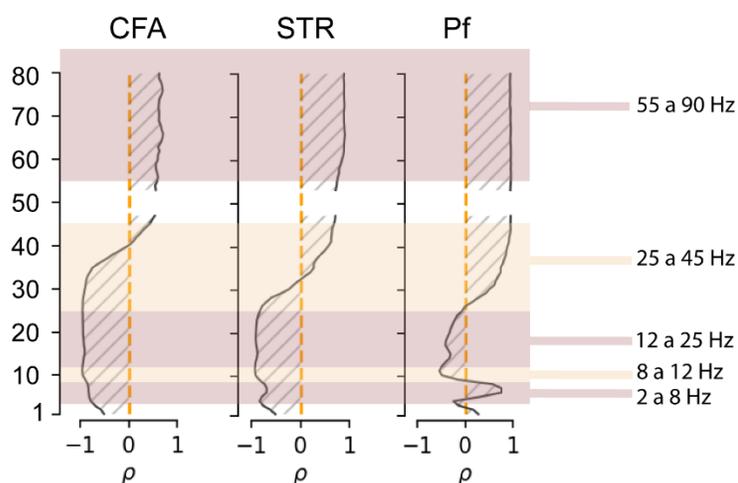


Figura 20. Bandas de frecuencia establecidas para análisis de densidad de potencia espectral representadas en franjas de colores. CFA: corteza motora “Caudal Forelimb Area”. STR: núcleo estriado dorsolateral. Pf: núcleo parafascicular

Para el análisis de potencia en las bandas de frecuencia especificadas, promediamos la densidad de potencia espectral (PSD) de ambos hemisferios de cada animal, obteniendo un solo valor de PSD por área registrada en cada animal. Para cada banda de frecuencia, se calculó el PSD promedio cuando el animal se encontraba activo, y un PSD promedio cuando el animal se encontraba inactivo.

Para determinar la existencia de diferencias en los valores de PSD realizamos pruebas de ANOVA de dos factores con corrección de Holm-Bonferroni por

comparaciones múltiples, buscando establecer si las diferencias obtenidas se explicaban por el **grupo** al que pertenecían los animales (Controles vs 6-OHDA) o al **índice motor** (Alto vs Bajo).

En corteza motora (CFA) se presentaron diferencias significativas en 2 de las 5 bandas de frecuencia (Figura 21). Primero, de manera consistente con lo observado en el análisis de correlación previo, existe un efecto significativo del **índice motor** en la banda de 12 a 25 Hz [$F(1,12)=11,018$; $p=0,006$; $\eta^2=0,463$], sin encontrarse efecto para el grupo ni la interacción entre grupo e índice motor en estas bandas.

La segunda banda que presentó diferencias fue la banda de 25 a 45 Hz, siendo significativo el efecto para el **grupo** [$F(1,12)=43,74$; $p<0,001$; $\eta^2=0,74$]. En esta banda el índice motor y la interacción entre índice motor y grupo no presentaron diferencias.

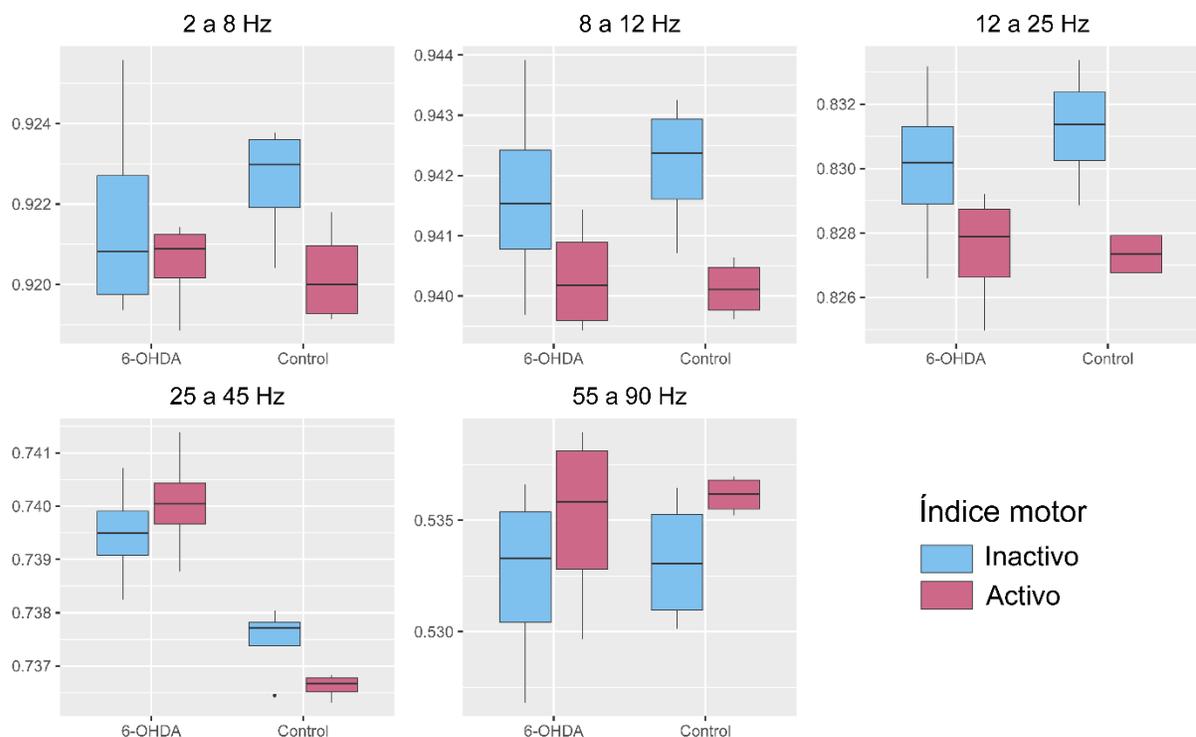


Figura 21. Densidad de potencia espectral en CFA según grupo e índice motor.

Resultado: en el estriado dorsolateral (STR), los animales lesionados versus los controles presentan diferente potencia espectral en las frecuencias de 25 a 45 Hz.

En el núcleo estriado dorsolateral (STR), solo una banda de las 5 bandas estudiadas presentó diferencias significativas (Figura 22).

Para el factor **grupo**, las diferencias significativas se encontraron en las bandas de 25 a 45 Hz [$F(1,12)=15,744$; $p=0,002$; $\eta^2=0,509$]. No existieron diferencias significativas para el factor **índice motor** ni para la interacción entre índice motor y grupo en ninguna banda.

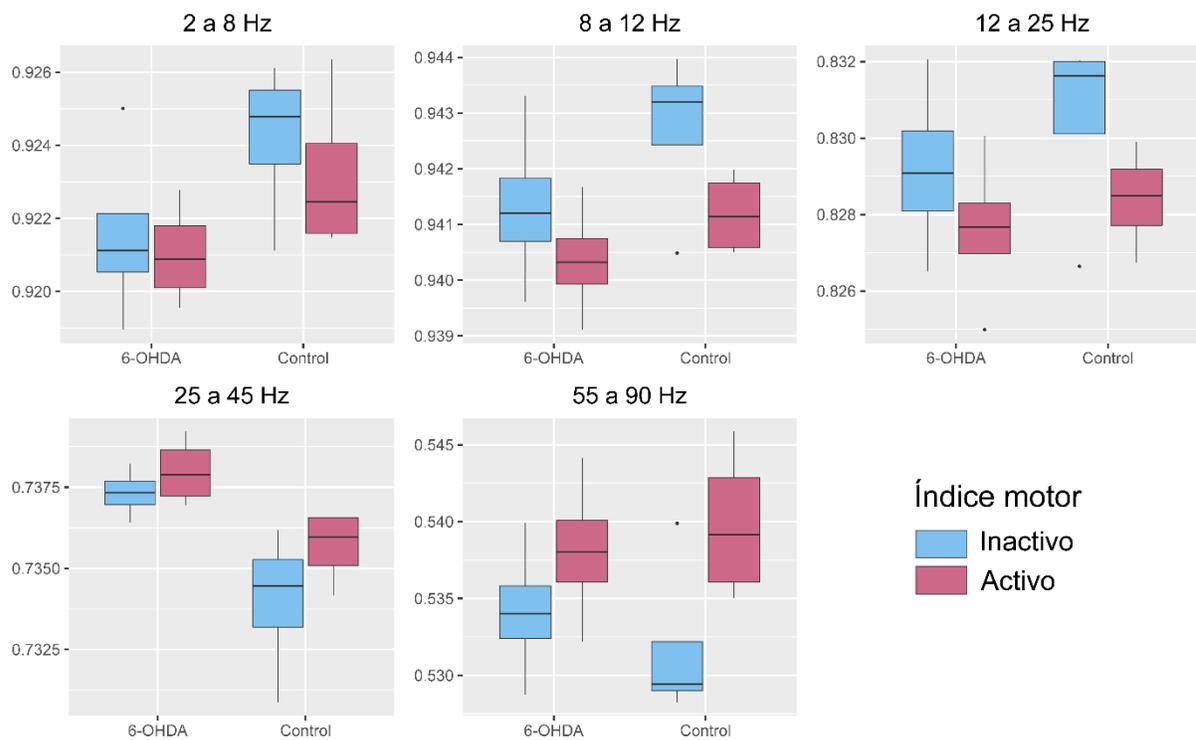


Figura 22. Densidad de potencia espectral en STR según grupo e índice motor.

Resultado: en el núcleo parafascicular (Pf), la potencia espectral cambia de acuerdo con el nivel de actividad motora de los animales en la banda de frecuencias de 25 a 45 Hz, tanto en los animales 6-OHDA como en los controles.

En el núcleo parafascicular (Pf) también se encuentran diferencias significativas asociadas al índice motor y al grupo. De las 5 bandas estudiadas 1 banda presentó diferencias significativas.

Para el factor **índice motor**, la banda de 25 a 45 Hz presentó diferencias significativas [$F(1,12)=12,198$; $p=0,004$; $\eta^2=0,496$]. En esta banda el grupo y la interacción entre índice motor y grupo no presentaron diferencias (Figura 23).

A pesar de existir una tendencia que marcaba diferencia según el grupo en varias bandas, estas diferencias no alcanzaron significancia estadística. Tampoco existieron diferencias para la interacción entre índice motor y grupo en ninguna banda estudiada.

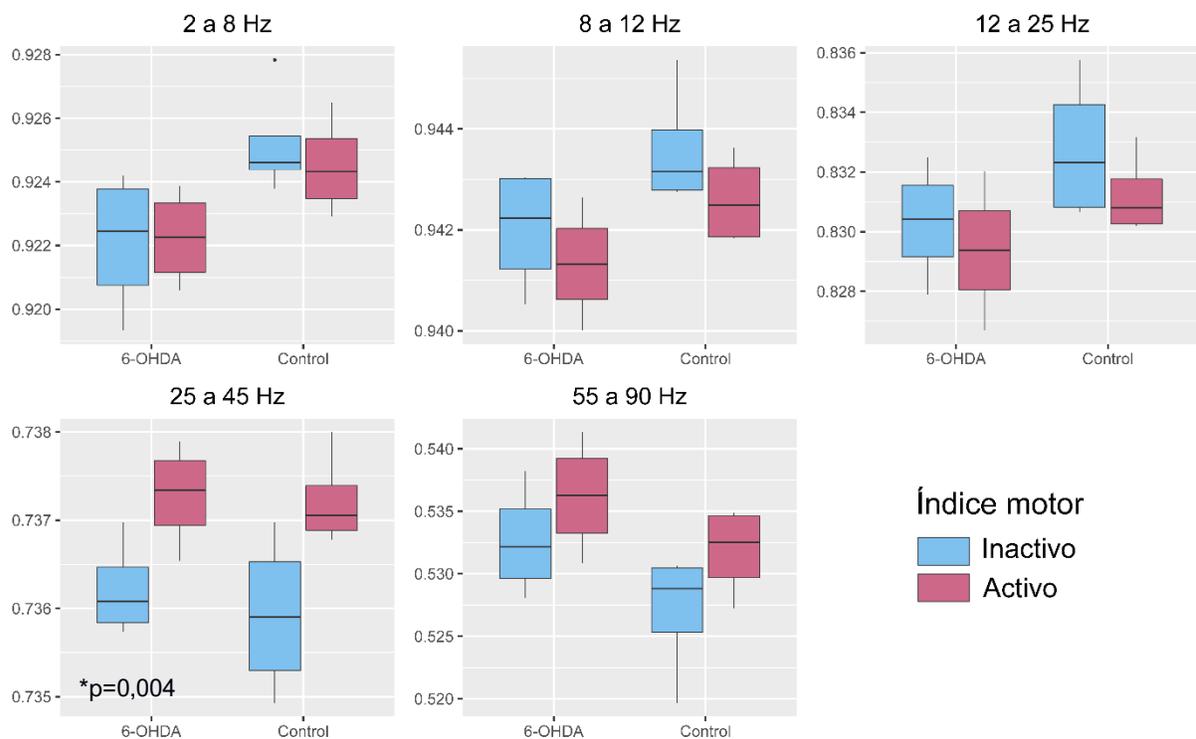


Figura 23. Densidad de potencia espectral en Pf según grupo e índice motor.

Por lo tanto, en condiciones de movimiento libre, la actividad electrofisiológica presenta modulaciones asociadas tanto a la condición grupo (lesión) como al índice motor en todas las áreas estudiadas. Existen bandas de frecuencia cuya potencia espectral se asocia al índice motor de los animales en las 3 áreas estudiadas y otras

bandas de frecuencia cuya potencia espectral se asocia al grupo al que los animales pertenecen. Estas asociaciones están presentes en las 3 áreas cerebrales estudiadas. La tabla 2 sintetiza los resultados por banda de frecuencia en cada área estudiada con la estadística correspondiente que apoya los resultados

BANDA	CFA	STR	Pf
2-8 Hz	Sin diferencias	Sin diferencias	Sin diferencias
8-12 Hz	Sin diferencias	Sin diferencias	Sin diferencias
12-25 Hz	Índice motor $\eta^2=0,463$	Sin diferencias	Sin diferencias
25- 45 Hz	Grupo $\eta^2=0,74$	Grupo $\eta^2=0,509$	Índice motor $\eta^2=0,496$
55- 90 Hz	Sin diferencias	Sin diferencias	Sin diferencias

Tabla 2: Resumen de factores que presentaron significancia estadística en análisis ANOVA de dos factores (Grupo x Índice Motor). η^2 : tamaño del efecto del factor

OBJETIVO 3: *Identificar los cambios en actividad motora y en la actividad oscilatoria en el núcleo parafascicular, corteza motora y estriado dorsolateral derivados de la estimulación eléctrica de la médula espinal en parkinsonismo.*

De acuerdo con el protocolo establecido, todos los animales fueron sometidos a la estimulación epidural con 4 frecuencias de estimulación continua: 300 Hz, 130 Hz, 60 Hz y 15 Hz. Cada sesión consistió en 15 minutos de registro de actividad basal, 15 minutos de registro con estimulación epidural y 15 minutos de registro de actividad posterior a la estimulación.

Resultado: *La estimulación epidural aplicada con una frecuencia de 15 Hz se asoció a un incremento en la actividad motora tanto en los animales 6-OHDA como en los controles.*

Para cada período del registro (Pre-estimulación, estimulación y post-estimulación) calculamos el índice motor promedio y determinamos la existencia de diferencias entre estos períodos mediante una prueba ANOVA de medidas repetidas de un factor.

Durante la EME se produjo el incremento de la actividad motora, reflejado como un mayor índice motor promedio, en el grupo control y en el grupo lesión con las 4 frecuencias de estimulación utilizadas, aunque únicamente en la frecuencia de 15 Hz se observaron diferencias significativas en los animales controles (n= 4, 5 sesiones de registro) [$F(2,12)=8,478$; $p=0,005$; $\eta^2=0,585$]. En los animales 6-OHDA las diferencias observadas no alcanzaron significancia estadística (n=3, 3 sesiones de registros), aunque el tamaño del efecto en esta condición es similar al observado para los animales controles [$F(2,6)=4,406$; $p=0,067$; $\eta^2=0,595$] (Figura 24).

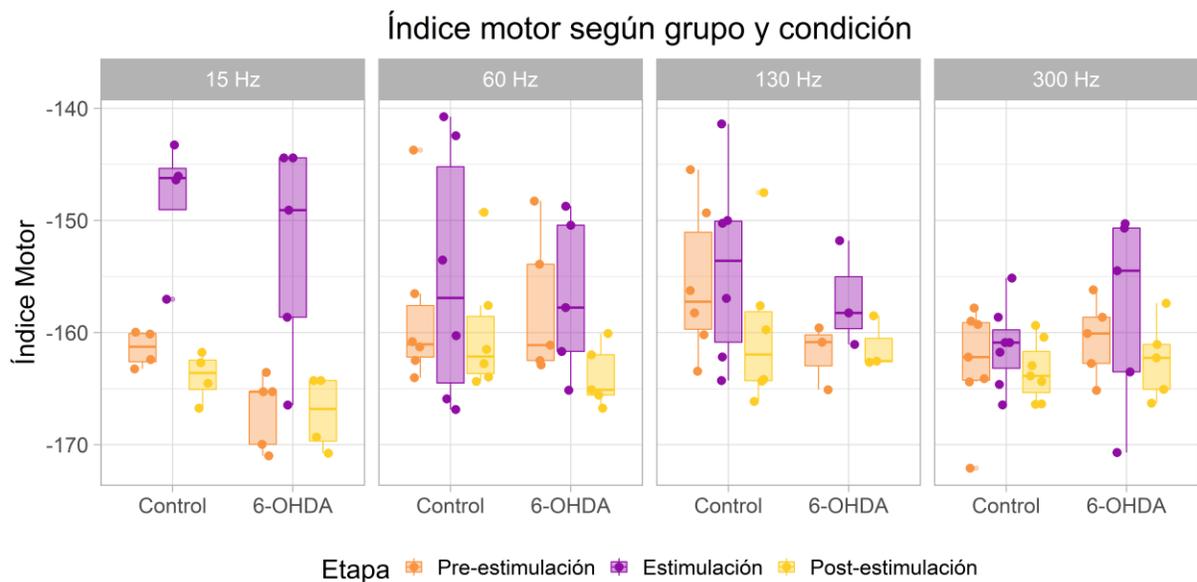


Figura 24. Índice motor promedio en cada etapa de estimulación, según grupo y frecuencia de estimulación.

Todos los registros incluidos

Al analizar la distribución del movimiento de los animales se observó que los animales del grupo control y el grupo 6-OHDA permanecen en estado inactivo con mucha mayor frecuencia de lo que se encuentran en estado activo. Es posible observar un incremento en los episodios “activos” durante la estimulación de 15 Hz, lo cual es coincidente con lo observado al calcular el promedio del índice motor de los 15 minutos de estimulación. (Figuras suplementarias, anexo 1).

Resultado: La estimulación epidural no se asoció a modificación en la potencia espectral tanto en los animales 6-OHDA, como en los animales controles

De la misma manera que para el objetivo 2, para el análisis espectral calculamos el promedio de la densidad de potencia espectral (PSD) en los períodos pre-estimulación, estimulación y post estimulación para las bandas de frecuencias: 2 a 8 Hz, 8 a 12 Hz, 12 a 25 Hz, 25 a 45 Hz y 55 a 90 Hz.

Calculamos la media del PSD de los dos hemisferios de cada animal, de modo de obtener un único valor de PSD por área registrada, el cual analizamos por medio de una prueba de ANOVA de medidas repetidas de un factor dentro de cada grupo de animales.

Las magnitudes promedio de PSD no presentaron cambios durante la estimulación medular para ninguna frecuencia de estimulación utilizada, en ninguna de las áreas estudiadas (CFA, Figura suplementaria 2; STR, Figura suplementaria 3; Pf, Figuras suplementaria 4).

Para representar visualmente los cambios en la magnitud de PSD durante el período de estimulación en comparación al período pre-estimulación, considerando las 4 frecuencias de estimulación utilizadas y las 5 bandas de frecuencia de actividad oscilatoria analizadas, calculamos el *ratio* entre la PSD durante la EME y previo a la EME. Este *ratio* se encuentra cercano a 1 en las 3 áreas estudiadas: CFA, STR y Pf (Figura 25).

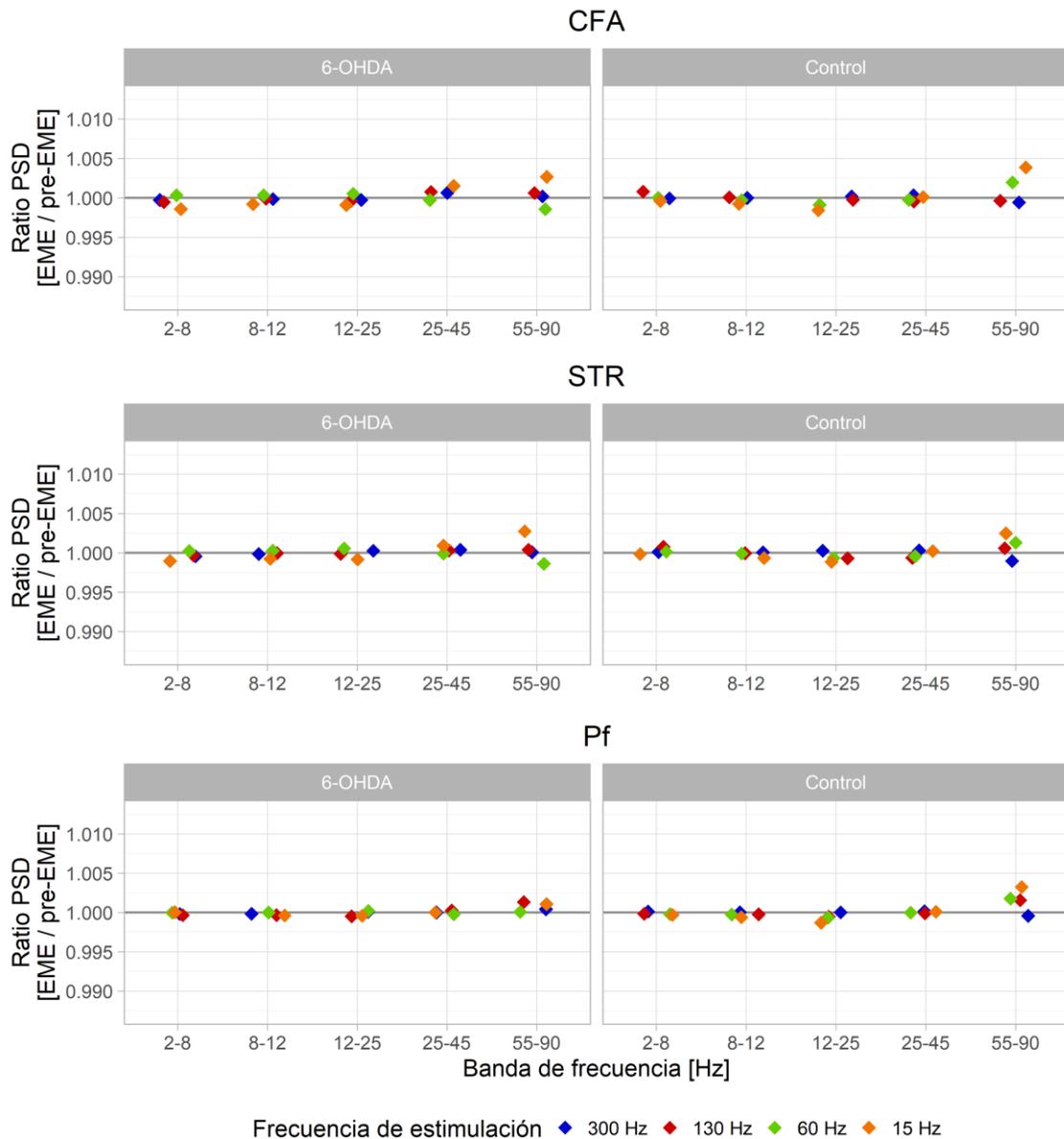


Figura 25. Ratio entre el PSD promedio durante la EME y la etapa pre-EME, para todas las frecuencias de EME en todas las bandas de actividad oscilatoria, según grupo control 6-OHDA. CFA: corteza motora (caudal forelimb área), STR: estriado dorsolateral, Pf: núcleo parafascicular

Por lo tanto, con respecto al objetivo 3 establecimos que la estimulación de la médula se asoció a cambios en la actividad motora que alcanzó significancia estadística sólo en una de las frecuencias estudiadas. Posiblemente esta falta de significancia estadística esté relacionada con la variabilidad intra-sujetos sumado al

reducido tamaño muestra. Similarmente, la actividad electrofisiológica, representada por la media de PSD de las 3 etapas de cada registro, no demostró diferencias atribuibles a la estimulación.

OBJETIVO 4: *Identificar los cambios en la actividad evocada en el núcleo parafascicular, corteza motora y estriado dorsolateral derivados de la estimulación eléctrica de la médula espinal en parkinsonismo*

Debido a la ausencia de cambios significativos en la potencia espectral, en todas las áreas estudiadas, durante la estimulación de la médula espinal, surge la necesidad de comprobar que la EME que utilizamos sea capaz de producir modificaciones en la actividad electrofisiológica a nivel central.

La actividad oscilatoria corresponde a la actividad conjunta y sincronizada de poblaciones neuronales en el tiempo. La ausencia de cambios en el PSD que obtuvimos podría explicarse por al menos dos motivos. En primer lugar, que la EME utilizada careciese de la intensidad suficiente para generar modificaciones de la actividad eléctrica cerebral, lo que puede verse reflejado en una ausencia de actividad evocada en las áreas registradas. Una segunda explicación correspondería a que los cambios generados por la EME fuesen de naturaleza transitoria por lo que no necesariamente se verían reflejados en cambios en la actividad oscilatoria en una ventana larga de análisis.

Resultado: la EME es capaz de generar una respuesta evocada en todas las áreas registradas del circuito cortico-tálamo-basal

De las 4 frecuencias de estimulación utilizadas, la frecuencia de 15 Hz ofrece la ventana más amplia para el análisis de la respuesta evocada. Al estudiar la respuesta evocada por los pulsos de corriente de las sesiones de EME a 15 Hz establecimos que existe respuesta evocada en todas las áreas registradas (Figura 26).

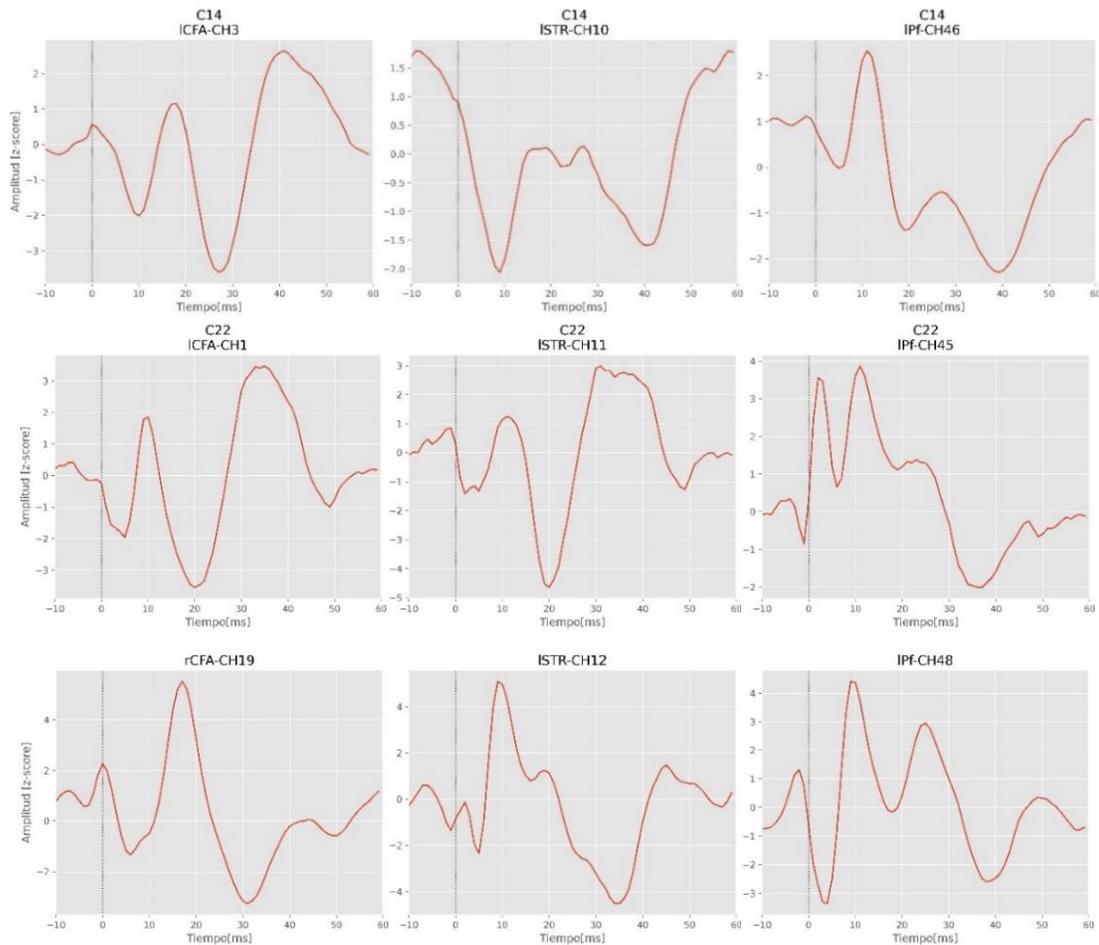


Figura 26. Ejemplos representativos de potenciales evocados en 3 animales, en un canal de cada área registrada

Resultado: La respuesta a altas frecuencias no posee características evocadas

Para las frecuencias mayores de 15 Hz, el período entre pulsos resultó ser insuficiente para analizar actividad evocada, debido a que observamos respuestas cíclicas de baja amplitud que poseían la misma frecuencia que la estimulación. Esta respuesta poseía el mismo comportamiento previo y posterior a la entrega del pulso de corriente (Figura 27).

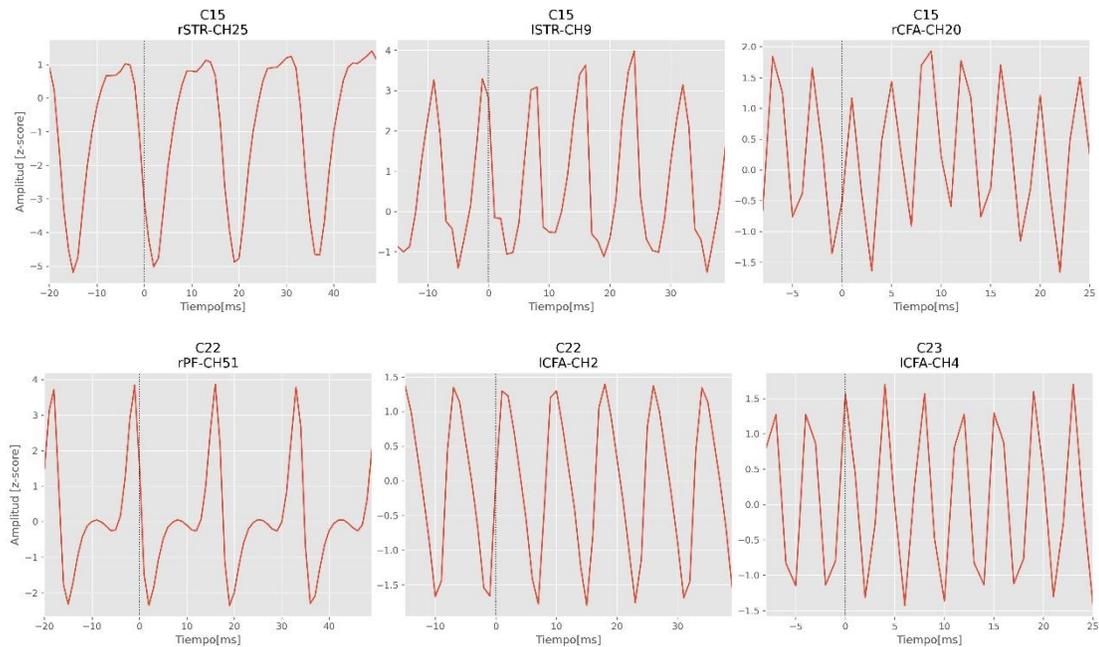


Figura 27. Ejemplos representativos de potenciales “evocados” en frecuencias de 60, 130 y 300 Hz

Para analizar de manera objetiva la magnitud de la respuesta evocada (existencia de diferencias entre la amplitud de la actividad previa y posterior al pulso), se estandarizó la respuesta post-pulso en medidas de z-score, usando como referencia o línea base una ventana de tiempo previa al pulso de un 1/5 de duración en comparación a la ventana posterior al pulso. La amplitud máxima de la respuesta, se obtuvo midiendo la diferencia entre el peak máximo y el valle mínimo de la ventana post-pulso.

Al graficar la amplitud máxima de la respuesta evocada, evidenciamos que la amplitud obtenida con la estimulación de 15 Hz fue de mayor magnitud en comparación a las otras frecuencias de estimulación. Al calcular la correlación existente entre la frecuencia de estimulación y la amplitud de respuesta (mediante el cálculo de correlación de Pearson), obtuvimos una correlación negativa en todas las áreas, por tanto, la magnitud de respuesta fue consistentemente menor en las frecuencias más altas de estimulación (Figura 28).

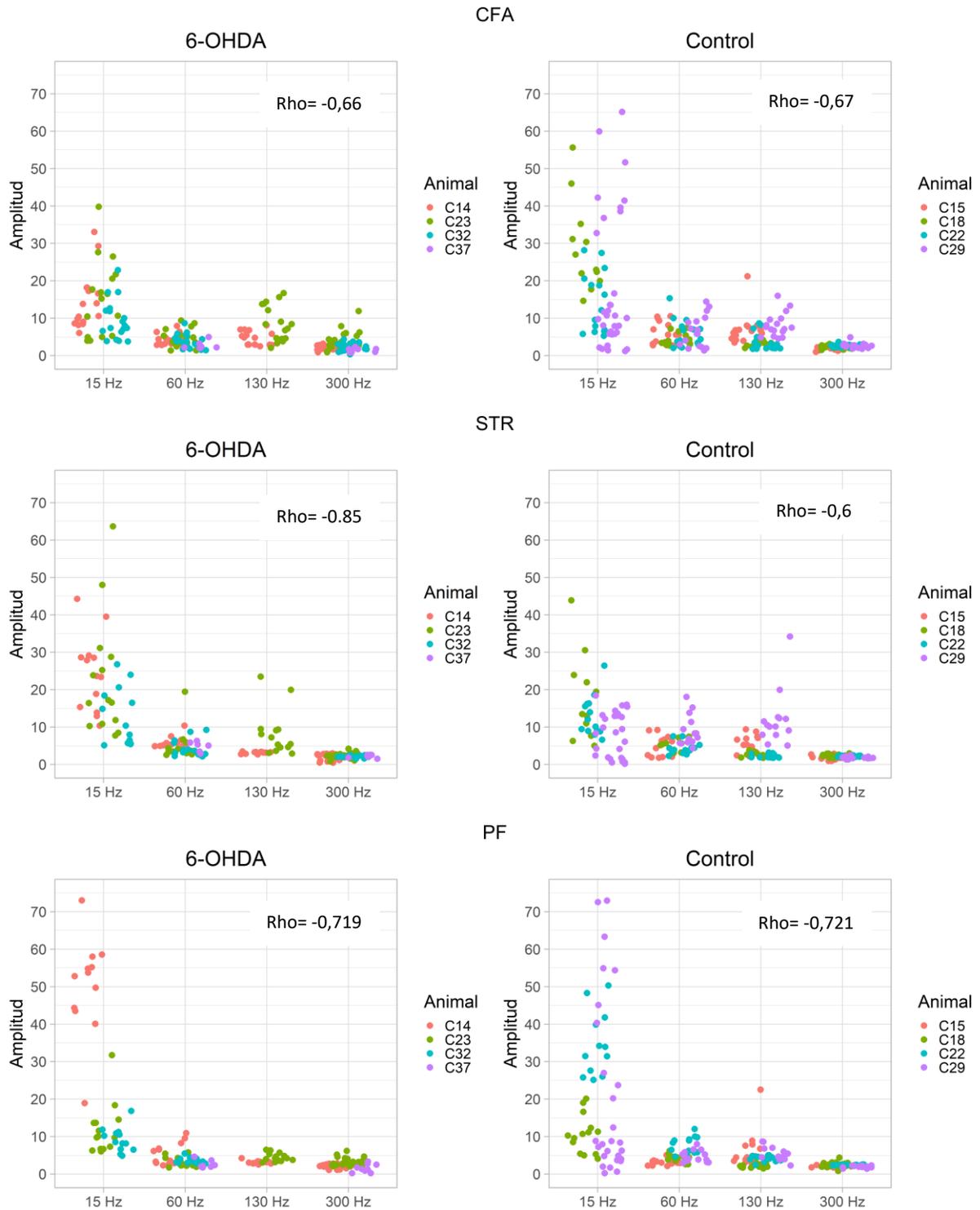


Figura 28. Amplitud de la respuesta evocada medida en z score en todas las áreas registradas, para todas las frecuencias de estimulación utilizadas. Rho: coeficiente de correlación de spearman. CFA: Caudal forelimb área; STR: estriado dorsolateral; Pf: núcleo parafascicular

En resumen, con respecto al objetivo 4 pudimos determinar que la EME si fue capaz de generar respuesta evocada a nivel de las áreas registradas, incluido el núcleo parafascicular. Para frecuencias de estimulación más altas, sin embargo, no pudimos cuantificar una respuesta evocada dada la naturaleza oscilatoria de las variaciones de potencial de campo local.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que la actividad neuronal oscilatoria en el circuito corteza-estriado-parafascicular está directamente relacionada con la actividad motora de los animales. La condición de lesión con 6-OHDA generó incrementos en el poder espectral entre 25 a 45 Hz en áreas como la corteza cerebral y el núcleo estriado, no así en el núcleo parafascicular. Estas características oscilatorias no fueron modificadas por la estimulación eléctrica de la médula espinal, a pesar de que la estimulación aparentemente sí alcanzó las áreas estudiadas.

Dado que nuestra hipótesis planteaba que existirían cambios en el núcleo parafascicular asociados a la lesión con 6-OHDA y que la estimulación de la médula espinal aumentaría la actividad motora a la vez que restablecería las alteraciones encontradas, los resultados obtenidos no apoyan nuestra hipótesis.

La utilización de modelos de lesión con 6-OHDA para estudiar la enfermedad de Parkinson posee larga data (Urban Ungerstedt, 1968), aunque el modelo unilateralmente es usado con mayor frecuencia. El modelo de lesión con 6-OHDA en estriado de manera bilateral se asocia a consecuencias como adipsia, abulia y afagia, lo cual fue una complicación que dificultó considerablemente las primeras etapas de la investigación, el cual pudo ser sorteado mediante exhaustivos cuidados y la suplementación calórica postoperatoria.

A pesar de la mayor dificultad de trabajar con el modelo bilateral, se escogió este modelo por sobre el modelo unilateral para evitar las contribuciones interhemisféricas que pudiesen interferir en los resultados. El complejo centro mediano parafascicular es parte de los núcleos intralaminares centro-caudales del tálamo, núcleos considerados parte del sistema reticular activante, y que originan proyecciones difusas o no específicas a la corteza cerebral (Herrero et al., 2002); además, el núcleo parafascicular envía proyecciones al núcleo subtalámico mayoritariamente ipsilateral, pero existe una proporción minoritaria de fibras que proyectan al STN contralateral (Castle et al., 2005).

Para la evaluación conductual, los modelos unilaterales utilizan principalmente la cuantificación de asimetría motora, siendo cada animal su propio control. En el caso de los modelos bilaterales, la comparación debía realizarse entre grupos. Esperábamos que en el modelo de 6-OHDA bilateral, las alteraciones motoras fuesen severas y se tradujesen en una marcada hipocinesia al compararlo con los animales controles, situación que no ocurrió.

En nuestro experimento no observamos diferencias en la magnitud ni cantidad de movimiento que presentaron los animales lesionados versus los animales controles. Al observar la densidad de datos para cada valor de índice motor en cada registro de los animales controles y los 6-OHDAs, resulta claro que ambos grupos se mantienen principalmente en estados de inactividad.

Existen distintas circunstancias a lo largo del experimento que pudieron contribuir a la baja actividad motora mostrada por los animales tanto del grupo 6-OHDA como el grupo control. Cada animal fue sometido a 3 cirugías en el plazo de 5 semanas, siendo la cirugía de implante de electrodo medular la más invasiva y cruenta. Durante la cirugía de implante de electrodo medular se realiza la desinserción de los músculos espino trapecio y latísimo del dorso, además de la resección de los procesos espinosos de las vértebras T4 y T5. Posterior a la cirugía algunos animales experimentaron procesos inflamatorios que generaron una paresia de los segmentos caudales del implante, la que revertía en el transcurso de las semanas. Tanto la situación de desventaja mecánica posterior a la lesión musculoesquelética asociada a la cirugía, así como la paresia transitoria, constituyen factores que reducirían la movilidad de todos los animales, independiente de la lesión de 6-OHDA.

Otro factor que explicaría el escaso movimiento mostrado por nuestros animales es la habituación a la manipulación y el set up de registro. Posterior a la cirugía de lesión, todos los animales fueron alimentados por vía enteral dos veces al día, para asegurar una ingesta calórica que previniera una excesiva reducción de peso. Una vez finalizadas las cirugías, los animales fueron registrados con un intervalo de 1 a 2 días, en un espacio reducido de dimensiones 32 x 25 x 30 cm., en el cuál rápidamente perdían interés y cesaban la exploración.

Según los estudios realizados por Kafkaki y cols. (2001), la velocidad a la que se desplazan roedores como las ratas en paradigmas de movimiento libre en campo abierto, tiene una distribución a la que se pueden ajustar 2 a 3 curvas normales. Esto quiere decir que existirían 2 a 3 velocidades preferidas, siendo la velocidad de 5 cm/s la más frecuentemente observada (Kafkafi et al., 2001). Este estudio realizado por Kafkaki lograba una buena determinación de la velocidad de locomoción de los animales a pesar de que se registraban los movimientos a través de rayos infrarrojos dispuestos en paralelo cada 2,5 cm con una frecuencia de muestreo de 4 Hz, o sea con una baja resolución espacial y temporal.

Por su lado Grieb y cols. (2013) describieron las diferencias en la actividad locomotora de animales controles y animales lesionados con 6-OHDA. Los resultados que obtuvieron también muestran un peak de actividad locomotora a una velocidad de 5 cm/s y un segundo peak de actividad locomotora a una velocidad de 20 cm/s. Al comparar la actividad de animales controles versus 6-OHDA se pudo determinar que los animales 6-OHDA presentan una reducción de la actividad locomotora a mayores velocidades (20 cm/s), no así en la locomoción a 5 cm/s (Grieb et al., 2013).

A diferencia de nuestro estudio, los estudios realizados tanto por Kafkaki y cols, como por Grieb y cols. se enfocan en la actividad locomotora como métrica de movimiento. Cuando en nuestros animales analizamos la actividad motora medida en cm/s pudimos observar que la velocidad más frecuente a la que se movieron los animales fue tan solo de 0.9 cm/s. Esta velocidad no correspondería a actividad locomotora, y concuerda con nuestra observación de que la actividad motora que registramos corresponde en gran medida a movimientos que los animales realizan en una misma ubicación espacial. Si hubiéramos categorizado la actividad motora basados únicamente en la velocidad, habríamos obtenido como resultado, erróneamente, que los animales se encontraban en reposo. Sin embargo, la acelerometría permitió detectar la actividad motora aun cuando el animal no se desplaza, como lo evidencia el alto número de eventos de baja velocidad, pero alto índice motor en nuestros resultados.

De acuerdo con nuestra categorización, inferimos que valores menores a 5 de índice motor indican reposo total, y valores más altos indican movimiento. Esto es concordante con métricas como las usadas por Alves da Silva. En su estudio, Alves da Silva da cuenta de una distribución bimodal, determinada a partir de la información de sensores inerciales. Difiere si en que su distribución contiene más episodios de alto movimiento, probablemente debido a que el espacio físico donde se realizaron los registros también era de mayores dimensiones (da Silva et al., 2018).

Aparentemente el espacio reducido donde se realizaron los registros no permitió que los animales pudieran realizar aceleraciones suficientes para alcanzar mayores velocidades, condicionando así la ausencia de diferencias en la actividad motora de ambos grupos. A pesar de esta situación, la medición de aceleración realizada nos permitió cuantificar inequívocamente, y a una alta resolución temporal (la misma del registro electrofisiológico), la cantidad de actividad motora en cualquier instante del registro. Adicionalmente, esta medida permitió clasificar la actividad motora en dos estados de movimiento (activo vs inactivo). Estos estados tienen una correlato claro y consistente con la actividad neural oscilatoria del circuito motor cortico-estriato-talámico, como se detalla a continuación.

Actividad motora y actividad oscilatoria en el circuito CFA-STR-Pf durante movimiento libre

Cuando analizamos la densidad de potencia espectral (PSD) existente en movimiento libre, nuestros resultados mostraron que en las áreas registradas (CFA, STR y Pf) existen bandas de frecuencia cuya potencia se asocia al estado motor de los animales, mientras que existen algunas bandas de frecuencia que muestran diferencias en los animales lesionados con 6-OHDA.

El primer aspecto que destacar está dado por la conservación de los patrones de actividad electrofisiológica asociados al movimiento en los animales controles y los animales lesionados. En ambos grupos, el incremento del movimiento expresado en términos de índice motor se asoció a una reducción en la potencia espectral en las

bandas de frecuencias menores a 25 Hz y a un incremento en la potencia espectral en las bandas superiores a 25 Hz, tanto en estriado como en corteza motora.

Existe amplia evidencia que atribuye el incremento de la potencia espectral alrededor de 25 Hz en circuitos motores a la condición de parkinsonismo (Brown & Williams, 2005; Hammond et al., 2007; Holt et al., 2019) y se ha propuesto utilizar esta actividad como marcador para plantear estrategias terapéuticas de control de la estimulación cerebral profunda mediante retroalimentación por circuito cerrado (Holt et al., 2019; Little et al., 2012) aunque no existía] certeza de su efectividad (Johnson et al., 2016). De esta manera, cada vez que la potencia ~25 Hz (Beta) sobrepasa un umbral dado, el sistema aplica una salva de estimulación. Nuestros resultados sobre los patrones de actividad oscilatoria asociados al movimiento aportan a las bases teóricas para el diseño de esta estrategia, y nos permiten afirmar que no es posible evaluar la actividad oscilatoria independientemente del estado motor (no al menos en las áreas que estudiamos), y que por lo tanto cualquier estrategia basada en la potencia oscilatoria en rango beta debe necesariamente considerar el estado motor del sujeto.

Esta correlación de la potencia oscilatoria con la actividad motora es especialmente novedosa en el caso del núcleo parafascicular. En el núcleo parafascicular, la correlación entre poder espectral y actividad motora también se encontró conservada en los animales de ambos grupos. A la fecha no existía evidencia que explorase la actividad oscilatoria del núcleo parafascicular asociado al movimiento. Los escasos estudios existentes sobre actividad oscilatoria apuntaban al núcleo parafascicular en búsqueda de incrementos en la potencia espectral en la banda beta.

Sobre el incremento de potencia espectral en banda beta, nuestros resultados indican que este fenómeno no está presente en el núcleo parafascicular de los animales estudiados. Estos resultados son coincidentes con lo descrito por Parr-Brownlie y cols, quienes analizaron tanto la actividad unitaria como LFP en animales lesionados unilateralmente con 6-OHDA (Parr-Brownlie et al., 2009). Una diferencia considerable con este estudio es que los registros se realizaron en animales bajo anestesia, aboliendo la actividad motora.

En oposición a estos resultados, existe un grupo de investigación que ha reportado cambios electrofisiológicos en el Pf de animales lesionados unilateralmente con 6-OHDA. Este grupo estudió la actividad oscilatoria asociada a tareas de alcance (Wang et al., 2016) y locomoción (Zhang et al., 2018). Limita la comparación de resultados el hecho de que en el estudio de Wang y cols. (2016) solo se registró el hemisferio lesionado y no se describen las ventanas de tiempo utilizadas para el análisis electrofisiológico. De manera similar, en el estudio de Zhang et al (2018) únicamente se registró el núcleo Pf del hemisferio lesionado mientras los animales realizaban locomoción sobre una cinta rodante. A pesar de registrar 30 minutos de actividad, Zhang y cols. describen que analizan un total de 10 ventanas de 3 segundos, sin reportar lo sucedido con el resto del registro. En este estudio, las comparaciones se realizaron contra un grupo control del cual no existe descripción de procedimientos; tampoco poseen cuantificación objetiva del movimiento de los animales, lo que a la luz de nuestros datos resulta imprescindible para realizar cualquier análisis.

Si es llamativo del estudio de Zhang que sus animales lesionados y controles presentaban un alto poder espectral en la banda de 3 a 7 Hz, lo cual no es explorado. Esta banda de frecuencia se encuentra contenida en la banda de 2 a 8 Hz que nosotros estudiamos. Nuestros resultados mostraron que de 2 a 8 Hz existe una fuerte correlación positiva entre la potencia espectral y el movimiento de los animales con un peak de correlación a los 7 Hz. Esta banda de frecuencia coincide parcialmente con la denominada banda Theta (4 a 10 Hz) y no se encuentra descrita en el núcleo parafascicular.

Un fenómeno similar ha sido descrito en el hipocampo, donde se ha mostrado que la potencia espectral en banda theta está correlacionada positivamente con la actividad locomotora de animales sanos (Bender et al., 2015; Sławińska & Kasicki, 1998). Una posibilidad es que el incremento de potencia espectral en el núcleo parafascicular corresponda a un fenómeno de conducción volumétrica. De las 3 áreas registradas (CFA, STR y Pf), el núcleo Pf es el que se encuentra anatómicamente más cercano al hipocampo por lo que la probabilidad de conducción volumétrica hacia el Pf es mayor que a CFA o STR. No obstante, el procesamiento de datos incluyó la re-

referenciación de la señal por área. En esta re referenciación se sustrajo la media de la señal por área a cada canal de la misma área, lo que anularía los efectos de conducción volumétrica.

Otra posibilidad que vincula a estas estructuras es que exista algún tipo de conectividad indirecta entre el hipocampo y el Pf. No existen proyecciones monosinápticas conocidas entre estas dos estructuras sin embargo sí se ha demostrado que modificaciones en el núcleo parafascicular pueden influenciar la actividad eléctrica en el hipocampo. En un modelo animal de epilepsia de foco hipocampal tanto la estimulación eléctrica como la inhibición farmacológica sobre el núcleo Pf son capaces de reducir las descargas eléctricas paroxísticas en el hipocampo (Langlois et al., 2010). No se ha descrito que la actividad del hipocampo inflencie al Pf por lo que la probabilidad de que el fenómeno observado en Pf provenga desde hipocampo parece ser remota, aunque no puede ser descartada con la evidencia obtenida.

El núcleo parafascicular es una estructura que ha sido vinculada a procesos atencionales anticipatorios a movimientos voluntarios (Raeva, 2006) y al inicio y ejecución de secuencias (Díaz-Hernández et al., 2018), además posee conectividad aferente con áreas motoras, al recibir proyecciones desde cortezas motoras, premotoras, somatosensoriales, núcleos cerebelosos y áreas subcorticales relacionadas a la marcha como el núcleo pedúnculo pontino (Sadikot et al., 1992). Esta estrecha relación anatómica y funcional con procesos motores nos hace pensar que el incremento de la potencia espectral que observamos asociado al movimiento pudiese representar un fenómeno local.

Actividad motora y actividad oscilatoria en el circuito CFA-STR-Pf y estimulación epidural

Una vez descritos los fenómenos oscilatorios asociados a la condición de 6-OHDA y al nivel de actividad motora, analizamos que sucedía tanto electrofisiológicamente como motoramente cuando los animales eran sometidos a estimulación eléctrica de la médula espinal.

De las 4 frecuencias utilizadas para realizar la estimulación de la médula espinal, cuando se estimuló con una frecuencia de 15 Hz existieron cambios significativos en la actividad motora de los animales. Otras frecuencias generaron mayor variabilidad en el índice motor de los animales, pero no modificaron significativamente la actividad en ningún grupo.

Si observamos la figura 20, podemos darnos cuenta de que tanto la media del índice motor y el rango intercuartílico son mayores durante la estimulación medular en todos los casos, con excepción del grupo control sometido a estimulación medular de 300 Hz. Esta variabilidad aumentada podría deberse a la subjetividad en la determinación de la intensidad de estimulación, debido a que este umbral era determinado en base a la observación de la conducta del animal. Los animales eran colocados en la caja de registro y eran estimulados 1 segundo con la frecuencia a estudiar en esa sesión. La intensidad de la estimulación se incrementaba de manera gradual hasta que se alcanzaba una intensidad en que los animales mostraban cambios conductuales del tipo sobre salto o movimientos de cabeza. El umbral de estimulación era definido como la intensidad de corriente en la que se producía el cambio conductual.

A pesar de que esperábamos encontrar diferente efecto en el grupo control vs el grupo 6-OHDA, el incremento en la actividad motora asociado a los 15 Hz fue un fenómeno que se manifestó tanto en el grupo control como en el grupo 6-OHDA. De estudios de estimulación medular en dolor crónico, se conoce que las frecuencias de estimulación habitualmente utilizadas producen la sensación de parestesia por reclutamiento de las fibras A β en las columnas dorsales (He et al., 1994). Es posible que distintas frecuencias de estimulación produjesen diferentes niveles de parestesias y que esta parestesia fuese un estímulo para iniciar el movimiento. Al ser un modelo animal, no es posible objetivar las parestesias gatilladas, situación contraria a la que ocurre en estudios en humanos, donde las parestesias se utilizan como indicador para definir los parámetros de estimulación (Samotus et al., 2018).

Con respecto a los resultados electrofisiológicos, la estimulación de la médula espinal no produjo cambios de la actividad oscilatoria medida a través del PSD. Cabe

recordar que nuestro análisis de la actividad oscilatoria se realizó sobre el promedio de PSD de toda la ventana de estimulación en comparación a las etapas pre y post estimulación. Esto contradice lo descrito sobre EME en modelos primates de parkinsonismo (Santana et al., 2014), donde la EME produjo una reducción en la potencia espectral en banda beta junto con incrementar la actividad motora de los animales. Cabe mencionar que en el estudio de Santana y col. los animales fueron sometidos a la lesión con 6-OHDA sumado a la depleción farmacológica de la síntesis de dopamina lo cual reduce aún más la disponibilidad de dopamina y se asocia a un estado de hipokinesia severo, además, los tiempos de estimulación utilizados en este estudio correspondería a periodos cortos de 1 a 2 minutos de estimulación.

Nuestros resultados se encuentran en la misma línea de lo obtenido por Brys y cols., quienes utilizaron un modelo murino de alfa synucleina. El modelo de alfa synucleina se asocia a un porcentaje menor de muerte neuronal y a una sintomatología motora leve. En este modelo no se obtuvieron diferencias sustanciales en la actividad locomotora de los animales tanto a nivel basal como durante la SCS (Brys et al., 2016) y tampoco se asoció la SCS a modificaciones en la actividad oscilatoria cerebral (Brys et al., 2017).

Existiría una relación entre la magnitud de la depleción dopaminérgica y la magnitud del incremento de la actividad oscilatoria en beta dado que los resultados más contundentes de incremento en beta y efecto terapéutico de la SCS se han observado cuando la lesión con 6-OHDA o MPTP es asociada a la depleción farmacológica (Fuentes et al., 2009; Santana et al., 2014). A partir de nuestros datos podemos afirmar que la evaluación de los efectos de la SCS sobre la actividad oscilatoria cerebral debe estar asociada a métricas sensibles de actividad motora, que no se limiten solo a la locomoción, sino a movimientos sin desplazamiento en cualquier plano y eje.

Finalmente, el análisis de la actividad evocada mostró que sí existen potenciales evocados en las tres áreas estudiadas cuando se estimula con frecuencias de 15 Hz. No existen otros estudios que a la fecha hayan explorado la ocurrencia de actividad

evocada a partir de estimulación medular en el modelo de parkinsonismo u otros modelos animales.

Es necesario mencionar que utilizar intensidades de estimulación basadas en la determinación subjetiva del umbral puede ser poco preciso, y es probable que la cantidad de corriente que se entregue varíe en todos los animales y entre sesiones de registro. Aunque la determinación del umbral de estimulación busca compensar los cambios en la impedancia que se producirían por la formación de tejido fibroso alrededor del electrodo, no deja de constituir una fuente de variabilidad. A pesar de existir esta limitante, la respuesta evocada observada en todos los animales fue de similares características.

Una segunda posibilidad es que frecuencias altas de estimulación produzcan un efecto inhibitorio en las neuronas, lo que explicaría la ocurrencia de variaciones sub-umbral del potencial extracelular. Este fenómeno de inhibición se ha descrito en paradigmas de estimulación cerebral profunda (Udupa & Chen, 2015) y también en estimulación medular en modelos animales (Santana et al., 2014). El mecanismo que sustentaría esta inhibición es aún materia de estudio.

La similitud de las respuestas evocadas observadas en el núcleo parafascicular, estriado, y la corteza motora, sugiere que, aunque el parafascicular no sea un relevo de las vías somatosensoriales, la estimulación de la medula espinal sí modifica su actividad. Las herramientas de análisis utilizadas eliminan efectivamente la contribución de la conducción volumétrica a la señal (incluido el artefacto del pulso de estimulación) en todos los canales, lo que permitió visualizar la ocurrencia de potenciales evocados en todas las áreas asociados a la estimulación con 15 Hz.

La ocurrencia de potenciales evocados en las 3 áreas estudiadas corrobora que el núcleo parafascicular es una estructura sensible a la estimulación epidural y mantiene la interrogante sobre la participación de este núcleo en la regulación de los síntomas motores. Posteriores investigaciones que busquen dilucidar los mecanismos de acción de la estimulación medular o ahondar en las modificaciones funcionales del circuito de los núcleos de la base en EP, deben tomar en cuenta la participación del

parafascicular en el control de la sintomatología motora, considerando siempre el nivel de actividad motora.

CONCLUSIÓN

De acuerdo con la evidencia obtenida es necesario rechazar la hipótesis planteada. No existieron alteraciones en la actividad motora de los animales lesionados con 6-OHDA en comparación a animales controles, sin embargo, esta situación se encontró altamente influida por la escasa velocidad de movimiento que los animales podían alcanzar en el espacio de registro reducido donde se ubicó a los animales.

En nuestro estudio pudimos determinar la existencia de alteraciones en la actividad oscilatoria de animales lesionados con 6-OHDA, específicamente un incremento en la potencia espectral en la banda de frecuencia de 25 a 45 Hz en la corteza motora y estriado, pero no en el núcleo parafascicular.

Con relación a la estimulación de la médula espinal, ninguno de los protocolos aplicados fue capaz de revertir el incremento de potencia espectral 25 a 45 Hz en la corteza motora ni estriado, y tampoco generó modificaciones en la actividad oscilatoria en otras áreas y bandas.

A pesar de estos resultados negativos pudimos establecer que:

1. La actividad motora medida a través de la acelerometría permite cuantificar y categorizar distintos niveles de actividad motora.

2. La actividad oscilatoria en la corteza motora, núcleo estriado y núcleo parafascicular posee una correlación consistente con la actividad motora: la potencia espectral mayor a 30 Hz se correlaciona positivamente con la actividad motora, mientras que la potencia espectral a frecuencias menores que 30 Hz presenta una correlación negativa.

3. El núcleo parafascicular presenta actividad oscilatoria en la banda Theta, la que correlaciona positivamente con la actividad motora

4. Existe una correlación negativa entre la magnitud de la respuesta evocada y la frecuencia de estimulación medular epidural. Específicamente, frecuencias de estimulación bajas (15 Hz) producen respuestas evocadas de alta magnitud. Frecuencias de estimulación mayores, como 60, 130, y 300 Hz, producen respuestas evocadas de magnitud decreciente.

Aunque la hipótesis fue rechazada, nuestros resultados nos permiten corroborar que el núcleo parafascicular es un núcleo relevante en el circuito motor de los núcleos de la base ya que modifica su actividad de acuerdo con el movimiento. Además, el núcleo parafascicular presenta respuestas evocadas por la estimulación eléctrica de la médula espinal lo que mantiene en pie la interrogante sobre su participación en los efectos terapéuticos derivados de la estimulación medular en enfermedad de Parkinson.

Mira el artículo publicado por Liu D et al. Science 367: 440-445, 2020. Puede servirte.

BIBLIOGRAFÍA

- Albin, R. L., Young, A. B., & Penney, J. B. (1989). The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in Neurosciences*, *12*(10), 366–375. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(89\)90074-X](https://doi.org/10.1016/0166-2236(89)90074-X)
- Bender, F., Gorbati, M., Cadavieco, M. C., Denisova, N., Gao, X., Holman, C., Korotkova, T., & Ponomarenko, A. (2015). Theta oscillations regulate the speed of locomotion via a hippocampus to lateral septum pathway. *Nature Communications*, *6*(May). <https://doi.org/10.1038/ncomms9521>
- Bentea, E., Moore, C., Deneyer, L., Verbruggen, L., Churchill, M. J., Hood, R. L., Meshul, C. K., & Massie, A. (2017). Plastic changes at corticostriatal synapses predict improved motor function in a partial lesion model of Parkinson's disease. *Brain Research Bulletin*, *130*, 257–267. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.02.005>
- Bergman, H., Wichmann, T., & DeLong, M. R. (1990). Reversal of Experimental Parkinsonism By Lesions of the STN. *Science*, *249*(4975), 1436–1438.
- Bergman, H., Wichmann, T., Karmon, B., & DeLong, M. R. (1994). The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *Journal of Neurophysiology*, *72*(2), 507–520. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.72.2.507>
- Blesa, J., Trigo-Damas, I., Dileone, M., del Rey, N. L. G., Hernandez, L. F., & Obeso, J. A. (2017). Compensatory mechanisms in Parkinson's disease: Circuits adaptations and role in disease modification. *Experimental Neurology*, *298*(September), 148–161. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.10.002>
- Bronstein, J. M., Tagliati, M., Alterman, R. L., Lozano, A. M., Volkman, J., Stefani, A., Horak, F. B., Okun, M. S., Foote, K. D., Krack, P., Pahwa, R., Henderson, J. M., Hariz, M. I., Bakay, R. A., Rezai, A., Marks, W. J., Moro, E., Vitek, J. L., Weaver, F. M., ... DeLong, M. R. (2011). Deep Brain Stimulation for Parkinson Disease. *Archives of Neurology*, *68*(2), 165. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.260>
- Bronte-Stewart, H., Barberini, C., Koop, M. M., Hill, B. C., Henderson, J. M., & Wingeier, B. (2009). The STN beta-band profile in Parkinson's disease is stationary and shows prolonged attenuation after deep brain stimulation. *Experimental Neurology*, *215*(1), 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.09.008>
- Brown, P., Oliviero, A., Mazzone, P., Insola, A., Tonali, P., & Di Lazzaro, V. (2001). Dopamine Dependency of Oscillations between Subthalamic Nucleus and Pallidum in Parkinson's Disease. *The Journal of Neuroscience*, *21*(3), 1033–1038. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-03->

01033.2001

- Brown, P., & Williams, D. (2005). Basal ganglia local field potential activity: Character and functional significance in the human. *Clinical Neurophysiology*, *116*(11), 2510–2519.
<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2005.05.009>
- Brys, I., Bobela, W., Schneider, B. L., Aebischer, P., & Fuentes, R. (2016). Spinal cord stimulation improves forelimb use in an alpha-synuclein animal model of Parkinson's disease. *The International Journal of Neuroscience*, *7454*(February), 1–9.
<https://doi.org/10.3109/00207454.2016.1138296>
- Brys, I., Nunes, J., & Fuentes, R. (2017). Motor deficits and beta oscillations are dissociable in an alpha-synuclein model of Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience*, *46*(3), 1906–1917. <https://doi.org/10.1111/ejn.13568>
- Buzsáki, G. (2004). Neuronal Oscillations in Cortical Networks. *Science*, *304*(5679), 1926–1929.
<https://doi.org/10.1126/science.1099745>
- Buzsáki, G., Anastassiou, C. a, & Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents--EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature Reviews. Neuroscience*, *13*(6), 407–420.
<https://doi.org/10.1038/nrn3241>
- Castle, M., Aymerich, M. S., Sanchez-Escobar, C., Gonzalo, N., Obeso, J. A., & Lanciego, J. L. (2005). Thalamic innervation of the direct and indirect basal ganglia pathways in the rat: Ipsi- and contralateral projections. *Journal of Comparative Neurology*, *483*(2), 143–153.
<https://doi.org/10.1002/cne.20421>
- da Silva, J. A., Tecuapetla, F., Paixão, V., & Costa, R. M. (2018). Dopamine neuron activity before action initiation gates and invigorates future movements. *Nature*, *554*(7691), 244–248.
<https://doi.org/10.1038/nature25457>
- Damodaran, S., Cressman, J. R., Jedrzejewski-Szmek, Z., & Blackwell, K. T. (2015). Desynchronization of Fast-Spiking Interneurons Reduces β -Band Oscillations and Imbalance in Firing in the Dopamine-Depleted Striatum. *Journal of Neuroscience*, *35*(3), 1149–1159.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3490-14.2015>
- de Andrade, E. M., Ghilardi, M. G., Cury, R. G., Barbosa, E. R., Fuentes, R., Teixeira, M. J., & Fonoff, E. T. (2015). Spinal cord stimulation for Parkinson's disease: a systematic review. *Neurosurgical Review*, *39*(1), 27–35. <https://doi.org/10.1007/s10143-015-0651-1>
- Deffains, M., & Bergman, H. (2019). Parkinsonism-related β oscillations in the primate basal ganglia networks – Recent advances and clinical implications. *Parkinsonism and Related Disorders*,

59(December 2018), 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2018.12.015>

- Deffains, M., Iskhakova, L., Katabi, S., Israel, Z., & Bergman, H. (2018). Longer β oscillatory episodes reliably identify pathological subthalamic activity in Parkinsonism. *Movement Disorders*, 33(10), 1609–1618. <https://doi.org/10.1002/mds.27418>
- DeLong, M. R. (1990). Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends in Neurosciences*, 13(7), 281–285. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90110-V](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90110-V)
- Díaz-Hernández, E., Contreras-López, R., Sánchez-Fuentes, A., Rodríguez-Sibrían, L., Ramírez-Jarquín, J. O., & Tecuapetla, F. (2018). The Thalamostriatal Projections Contribute to the Initiation and Execution of a Sequence of Movements. *Neuron*, 100(3), 739-752.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.09.052>
- Doig, N. M., Moss, J., & Bolam, J. P. (2010). Cortical and Thalamic Innervation of Direct and Indirect Pathway Medium-Sized Spiny Neurons in Mouse Striatum. *Journal of Neuroscience*, 30(44), 14610–14618. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1623-10.2010>
- Duvoisin, R. (1987). History of parkinsonism. *Pharmacology and Therapeutics*, 32(1), 1–17. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(87\)90061-1](https://doi.org/10.1016/0163-7258(87)90061-1)
- Elkouzi, A., Vedam-Mai, V., Eisinger, R. S., & Okun, M. S. (2019). Emerging therapies in Parkinson disease — repurposed drugs and new approaches. *Nature Reviews Neurology*, 15(4), 204–223. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0155-7>
- Fasano, A., Canning, C. G., Hausdorff, J. M., Lord, S., & Rochester, L. (2017). Falls in Parkinson's disease: A complex and evolving picture. *Movement Disorders*, 32(11), 1524–1536. <https://doi.org/10.1002/mds.27195>
- Féger, J., Bevan, M., & Crossman, A. R. (1994). The projections from the parafascicular thalamic nucleus to the subthalamic nucleus and the striatum arise from separate neuronal populations: A comparison with the corticostriatal and corticosubthalamic efferents in a retrograde fluorescent double-label. *Neuroscience*, 60(1), 125–132. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90208-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90208-9)
- Fénelon, G., Goujon, C., Gurruchaga, J.-M., Cesaro, P., Jarraya, B., Palfi, S., & Lefaucheur, J.-P. (2012). Spinal cord stimulation for chronic pain improved motor function in a patient with Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 18(2), 213–214. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2011.07.015>
- Fuentes, R., Petersson, P., Siesser, W. B., Caron, M. G., & Nicoletis, M. A. L. (2009). Spinal Cord Stimulation Restores Locomotion in Animal Models of Parkinson's Disease. *Science*, 323(5921), 1578–1582. <https://doi.org/10.1126/science.1164901>

- Gatev, P., Darbin, O., & Wichmann, T. (2006). Oscillations in the basal ganglia under normal conditions and in movement disorders. *Movement Disorders*, 21(10), 1566–1577. <https://doi.org/10.1002/mds.21033>
- Gerfen, C., Engber, T., Mahan, L., Susel, Z., Chase, T., Monsma, F., & Sibley, D. (1990). D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science*, 250(4986), 1429–1432. <https://doi.org/10.1126/science.2147780>
- Greenfield, J. G., & Bosanquet, F. D. (1953). The brain-stem lesions in Parkinsonism. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 16(4), 213–226. <https://doi.org/10.1136/jnnp.16.4.213>
- Grieb, B., von Nicolai, C., Engler, G., Sharott, A., Papageorgiou, I., Hamel, W., Engel, A. K., & Moll, C. K. (2013). Decomposition of abnormal free locomotor behavior in a rat model of Parkinson's disease. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 7(November), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2013.00095>
- Haber, S. N. (2003). The primate basal ganglia: Parallel and integrative networks. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 26(4), 317–330. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2003.10.003>
- Habets, J. G. V., Heijmans, M., Kuijf, M. L., Janssen, M. L. F., Temel, Y., & Kubben, P. L. (2018). An update on adaptive deep brain stimulation in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 33(12), 1834–1843. <https://doi.org/10.1002/mds.115>
- Hammond, C., Bergman, H., & Brown, P. (2007). Pathological synchronization in Parkinson's disease: networks, models and treatments. *Trends in Neurosciences*, 30(7), 357–364. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.05.004>
- He, J., Barolat, G., Holsheimer, J., & Struijk, J. J. (1994). Perception threshold and electrode position for spinal cord stimulation. *Pain*, 59(1), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90047-7](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90047-7)
- Heimer, G., Bar-Gad, I., Goldberg, J. A., & Bergman, H. (2002). Dopamine replacement therapy reverses abnormal synchronization of pallidal neurons in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine primate model of parkinsonism. *Journal of Neuroscience*, 22(18), 7850–7855. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-18-07850.2002>
- Henderson, J. M., Carpenter, K., Cartwright, H., & Halliday, G. M. (2000). Loss of thalamic intralaminar nuclei in progressive supranuclear palsy and Parkinson's disease: clinical and therapeutic implications. *Brain: A Journal of Neurology*, 123 (Pt 7, 1410–1421. <https://doi.org/10.1093/brain/123.7.1410>
- Herrero, M. T., Barcia, C., & Navarro, J. M. (2002). Functional anatomy of thalamus and basal ganglia. *Child's Nervous System*, 18(8), 386–404. <https://doi.org/10.1007/s00381-002-0604-1>

- Hikosaka, O., & Wurtz, R. H. (1983). Visual and oculomotor functions of monkey substantia nigra pars reticulata. I. Relation of visual and auditory responses to saccades. *Journal of Neurophysiology*, 49(5), 1230–1253. <https://doi.org/10.1152/jn.1983.49.5.1230>
- Holt, A. B., Kormann, E., Gulberti, A., Pötter-Nerger, M., McNamara, C. G., Cagnan, H., Baaske, M. K., Little, S., Köppen, J. A., Buhmann, C., Westphal, M., Gerloff, C., Engel, A. K., Brown, P., Hamel, W., Moll, C. K. E., & Sharott, A. (2019). Phase-Dependent Suppression of Beta Oscillations in Parkinson's Disease Patients. *The Journal of Neuroscience*, 39(6), 1119–1134. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1913-18.2018>
- Huerta-Ocampo, I., Mena-Segovia, J., & Bolam, J. P. (2014). Convergence of cortical and thalamic input to direct and indirect pathway medium spiny neurons in the striatum. *Brain Structure & Function*, 219(5), 1787–1800. <https://doi.org/10.1007/s00429-013-0601-z>
- Johnson, L. A., Nebeck, S. D., Muralidharan, A., Johnson, M. D., Baker, K. B., & Vitek, J. L. (2016). Closed-Loop Deep Brain Stimulation Effects on Parkinsonian Motor Symptoms in a Non-Human Primate – is Beta Enough? *Brain Stimulation*. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2016.06.051>
- Jones, E. G., & Leavitt, R. Y. (1974). Retrograde axonal transport and the demonstration of non-specific projections to the cerebral cortex and striatum from thalamic intralaminar nuclei in the rat, cat and monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 154(4), 349–377. <https://doi.org/10.1002/cne.901540402>
- Kafkafi, N., Mayo, C., Drai, D., Golani, I., & Elmer, G. (2001). Natural segmentation of the locomotor behavior of drug-induced rats in a photobeam cage. *Journal of Neuroscience Methods*, 109(2), 111–121. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(01\)00392-2](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(01)00392-2)
- Khanna, P., & Carmena, J. M. (2015). Neural oscillations: Beta band activity across motor networks. *Current Opinion in Neurobiology*, 32, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.11.010>
- Kondabolu, K., Roberts, E. A., Bucklin, M., McCarthy, M. M., Kopell, N., & Han, X. (2016). Striatal cholinergic interneurons generate beta and gamma oscillations in the corticostriatal circuit and produce motor deficits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(22), E3159–E3168. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605658113>
- Kühn, A. A., Kupsch, A., Schneider, G. H., & Brown, P. (2006a). Reduction in subthalamic 8-35 Hz oscillatory activity correlates with clinical improvement in Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience*, 23(7), 1956–1960. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04717.x>
- Kühn, A. A., Kupsch, A., Schneider, G. H., & Brown, P. (2006b). Reduction in subthalamic 8-35 Hz oscillatory activity correlates with clinical improvement in Parkinson's disease. *European Journal*

of *Neuroscience*, 23(7), 1956–1960. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04717.x>

Lanciego, J. L., Luquin, N., & Obeso, J. A. (2012). Functional neuroanatomy of the basal ganglia. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(12), 1–20.

<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009621>

Langlois, M., Polack, P. O., Bernard, H., David, O., Charpier, S., Depaulis, A., & Deransart, C. (2010). Involvement of the thalamic parafascicular nucleus in mesial temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience*, 30(49), 16523–16535. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1109-10.2010>

Lees, A. J., Tolosa, E., & Olanow, C. W. (2015). Four pioneers of L-dopa treatment: Arvid Carlsson, Oleh Hornykiewicz, George Cotzias, and Melvin Yahr. *Movement Disorders*, 30(1), 19–36.

<https://doi.org/10.1002/mds.26120>

Linderoth, B., & Foreman, R. D. (1999). Physiology of spinal cord stimulation: Review and update. *Neuromodulation*, 2(3), 150–164. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1403.1999.00150.x>

Little, S., Pogosyan, A., Kuhn, A. A., & Brown, P. (2012). Beta band stability over time correlates with Parkinsonian rigidity and bradykinesia. *Experimental Neurology*, 236(2), 383–388.

<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.04.024>

Mallet, N., Pogosyan, A., Sharott, A., Csicsvari, J., Bolam, J. P., Brown, P., & Magill, P. J. (2008). Disrupted Dopamine Transmission and the Emergence of Exaggerated Beta Oscillations in Subthalamic Nucleus and Cerebral Cortex. *Journal of Neuroscience*, 28(18), 4795–4806.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0123-08.2008>

Mandelbaum, G., Taranda, J., Haynes, T. M., Hochbaum, D. R., Huang, K. W., Hyun, M., Umadevi Venkataraju, K., Straub, C., Wang, W., Robertson, K., Osten, P., & Sabatini, B. L. (2019). Distinct Cortical-Thalamic-Striatal Circuits through the Parafascicular Nucleus. *Neuron*, 102(3), 636–652.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.02.035>

Matsumoto, N., Minamimoto, T., Graybiel, A. M., & Kimura, M. (2012). *Neurons in the Thalamic CM-Pf Complex Supply Striatal Neurons With Information About Behaviorally Significant Sensory Events*. *Neurons in the Thalamic CM-Pf Complex Supply Striatal Neurons With Information About Behaviorally Significant Sensory Events*. 960–976.

Melzack, R., & Wall, P. D. (1994). Pain mechanisms: A new theory. *Pain Clinic*, 7(1), 57–72.

<https://doi.org/10.1017/cbo9780511759048.009>

Morris, M. E., Iansek, R., Matyas, T. A., & Summers, J. J. (1994). The pathogenesis of gait hypokinesia in parkinson's disease. *Brain*, 117(5), 1169–1181. <https://doi.org/10.1093/brain/117.5.1169>

- Neafsey, E. J., Bold, E. L., Haas, G., Hurley-Gius, K. M., Quirk, G., Sievert, C. F., & Terreberry, R. R. (1986). The organization of the rat motor cortex: A microstimulation mapping study. *Brain Research Reviews*, 11(1), 77–96. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(86\)90011-1](https://doi.org/10.1016/0165-0173(86)90011-1)
- Nini, A., Feingold, A., Slovin, H., & Bergman, H. (1995). Neurons in the globus pallidus do not show correlated activity in the normal monkey, but phase-locked oscillations appear in the MPTP model of parkinsonism. *Journal of Neurophysiology*, 74(4), 1800–1805. <https://doi.org/10.1152/jn.1995.74.4.1800>
- Okun, M. S. (2012). Deep-Brain Stimulation for Parkinson's Disease. *New England Journal of Medicine*, 367(16), 1529–1538. <https://doi.org/10.1056/NEJMct1208070>
- Parker, P. R. L., Lalive, A. L., & Kreitzer, A. C. (2016). Pathway-Specific Remodeling of Thalamostriatal Synapses in Parkinsonian Mice. *Neuron*, 89(4), 734–740. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.12.038>
- Parr-Brownlie, L. C., Poloskey, S. L., Bergstrom, D. A., & Walters, J. R. (2009). Parafascicular thalamic nucleus activity in a rat model of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, 217(2), 269–281. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.02.010>
- Penney, J. B., & Young, A. B. (1983). Speculations on the Functional Anatomy of Basal Ganglia Disorders. *Annual Review of Neuroscience*, 6(1), 73–94. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.06.030183.000445>
- Pinto de Souza, C., Hamani, C., Oliveira Souza, C., Lopez Contreras, W. O., dos Santos Ghilardi, M. G., Cury, R. G., Reis Barbosa, E., Jacobsen Teixeira, M., & Talamoni Fonoff, E. (2017). Spinal cord stimulation improves gait in patients with Parkinson's disease previously treated with deep brain stimulation. *Movement Disorders*, 32(2), 278–282. <https://doi.org/10.1002/mds.26850>
- Raeva, S. N. (2006). The role of the parafascicular complex (CM-Pf) of the human thalamus in the neuronal mechanisms of selective attention. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 36(3), 287–295. <https://doi.org/10.1007/s11055-006-0015-y>
- Sadikot, A. F., Parent, A., & François, C. (1992). Efferent connections of the centromedian and parafascicular thalamic nuclei in the squirrel monkey: A PHA-L study of subcortical projections. *Journal of Comparative Neurology*, 315(2), 137–159. <https://doi.org/10.1002/cne.903150203>
- Samotus, O., Parrent, A., & Jog, M. (2018). Spinal Cord Stimulation Therapy for Gait Dysfunction in Advanced Parkinson's Disease Patients. *Movement Disorders*, 33(5), 783–792. <https://doi.org/10.1002/mds.27299>
- Santana, M. B., Halje, P., Simplício, H., Richter, U., Freire, M. A. M., Petersson, P., Fuentes, R., &

- Nicolelis, M. A. L. (2014). Spinal cord stimulation alleviates motor deficits in a primate model of parkinson disease. *Neuron*, *84*(4), 716–722. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.08.061>
- Shealy, C. N., Mortimer, J. T., & Hagfors, N. R. (1970). Dorsal Column Electroanalgesia. *Journal of Neurosurgery*, *32*(5), 560–564. <https://doi.org/10.3171/jns.1970.32.5.0560>
- Shulman, L. M. (2010). Understanding disability in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, *25*(SUPPL. 1), 131–135. <https://doi.org/10.1002/mds.22789>
- Sławińska, U., & Kasicki, S. (1998). The frequency of rat's hippocampal theta rhythm is related to the speed of locomotion. *Brain Research*, *796*(1–2), 327–331. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(98\)00390-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)00390-4)
- Smith, Y., Bevan, M. D., Shink, E., & Bolam, J. P. (1998). Discussion. *Neuroscience*, *86*(2), 353–387. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00004-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00004-9)
- Smith, Y., & Parent, A. (1986). Differential connections of caudate nucleus and putamen in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Neuroscience*, *18*(2), 347–371. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(86\)90159-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(86)90159-4)
- Smith, Yolanda, Galvan, A., Ellender, T. J., Doig, N., Villalba, R. M., Huerta-Ocampo, I., Wichmann, T., & Bolam, J. P. (2014). The thalamostriatal system in normal and diseased states. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *8*(January), 5. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00005>
- Smith, Yolanda, Raju, D. V., Pare, J. F., & Sidibe, M. (2004). The thalamostriatal system: A highly specific network of the basal ganglia circuitry. *Trends in Neurosciences*, *27*(9), 520–527. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.07.004>
- Stern, G. (1966). The effects of lesions in the substantia nigra. *Brain*, *89*(3), 449–478. <https://doi.org/10.1093/brain/89.3.449>
- Surmeier, D. J., Ding, J., Day, M., Wang, Z., & Shen, W. (2007). D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. *Trends in Neurosciences*, *30*(5), 228–235. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.008>
- Tanimura, A., Du, Y., Kondapalli, J., Wokosin, D. L., & Surmeier, D. J. (2019). Cholinergic Interneurons Amplify Thalamostriatal Excitation of Striatal Indirect Pathway Neurons in Parkinson's Disease Models. *Neuron*, *101*(3), 444-458.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.12.004>
- Thenganatt, M. A., & Jankovic, J. (2014). Parkinson disease subtypes. *JAMA Neurology*, *71*(4), 499–504. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.6233>
- Udupa, K., & Chen, R. (2015). The mechanisms of action of deep brain stimulation and ideas for the

- future development. *Progress in Neurobiology*, 133, 27–49.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.08.001>
- Ungerstedt, U. (1971). Adipsia and Aphagia after 6-Hydroxydopamine Induced Degeneration of the Nigro-striatal Dopamine System. *Acta Physiologica Scandinavica*, 82(367 S), 95–122.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-201X.1971.tb11001.x>
- Ungerstedt, Urban. (1968). 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *European Journal of Pharmacology*, 5(1), 107–110. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(68\)90164-7](https://doi.org/10.1016/0014-2999(68)90164-7)
- Villalba, R. M., Wichmann, T., & Smith, Y. (2014). Neuronal loss in the caudal intralaminar thalamic nuclei in a primate model of Parkinson's disease. *Brain Structure and Function*, 219(1), 381–394.
<https://doi.org/10.1007/s00429-013-0507-9>
- Wallace, M. T., Meredith, M. A., & Stein, B. E. (1993). Converging influences from visual, auditory, and somatosensory cortices onto output neurons of the superior colliculus. *Journal of Neurophysiology*, 69(6), 1797–1809. <https://doi.org/10.1152/jn.1993.69.6.1797>
- Wang, M., Qu, Q., He, T., Li, M., Song, Z., Chen, F., Zhang, X., Xie, J., Geng, X., Yang, M., Wang, X., Lei, C., & Hou, Y. (2016). Distinct temporal spike and local field potential activities in the thalamic parafascicular nucleus of parkinsonian rats during rest and limb movement. *Neuroscience*, 330, 57–71. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.05.031>
- Zhang, H., Yang, J., Wang, X., Yao, X., Han, H., Gao, Y., Chang, H., Xiang, T., Sun, S., Wang, Y., Wang, X., & Wang, M. (2018). Altered Local Field Potential Relationship Between the Parafascicular Thalamic Nucleus and Dorsal Striatum in Hemiparkinsonian Rats. *Neuroscience Bulletin*. <https://doi.org/10.1007/s12264-018-0312-9>
- Bender, F., Gorbati, M., Cadavieco, M. C., Denisova, N., Gao, X., Holman, C., Korotkova, T., & Ponomarenko, A. (2015). Theta oscillations regulate the speed of locomotion via a hippocampus to lateral septum pathway. *Nature Communications*, 6(May). <https://doi.org/10.1038/ncomms9521>
- Bentea, E., Moore, C., Deneyer, L., Verbruggen, L., Churchill, M. J., Hood, R. L., Meshul, C. K., & Massie, A. (2017). Plastic changes at corticostriatal synapses predict improved motor function in a partial lesion model of Parkinson's disease. *Brain Research Bulletin*, 130, 257–267.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.02.005>
- Bergman, H., Wichmann, T., & DeLong, M. R. (1990). Reversal of Experimental Parkinsonism By Lesions of the STN. *Science*, 249(4975), 1436–1438.

- Bergman, H., Wichmann, T., Karmon, B., & DeLong, M. R. (1994). The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *Journal of Neurophysiology*, *72*(2), 507–520. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.72.2.507>
- Blesa, J., Trigo-Damas, I., Dileone, M., del Rey, N. L. G., Hernandez, L. F., & Obeso, J. A. (2017). Compensatory mechanisms in Parkinson's disease: Circuits adaptations and role in disease modification. *Experimental Neurology*, *298*(September), 148–161. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.10.002>
- Bronstein, J. M., Tagliati, M., Alterman, R. L., Lozano, A. M., Volkmann, J., Stefani, A., Horak, F. B., Okun, M. S., Foote, K. D., Krack, P., Pahwa, R., Henderson, J. M., Hariz, M. I., Bakay, R. A., Rezai, A., Marks, W. J., Moro, E., Vitek, J. L., Weaver, F. M., ... DeLong, M. R. (2011). Deep Brain Stimulation for Parkinson Disease. *Archives of Neurology*, *68*(2), 165. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.260>
- Bronte-Stewart, H., Barberini, C., Koop, M. M., Hill, B. C., Henderson, J. M., & Wingeier, B. (2009). The STN beta-band profile in Parkinson's disease is stationary and shows prolonged attenuation after deep brain stimulation. *Experimental Neurology*, *215*(1), 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.09.008>
- Brown, P., Oliviero, A., Mazzone, P., Insola, A., Tonali, P., & Di Lazzaro, V. (2001). Dopamine Dependency of Oscillations between Subthalamic Nucleus and Pallidum in Parkinson's Disease. *The Journal of Neuroscience*, *21*(3), 1033–1038. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-03-01033.2001>
- Brown, P., & Williams, D. (2005). Basal ganglia local field potential activity: Character and functional significance in the human. *Clinical Neurophysiology*, *116*(11), 2510–2519. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2005.05.009>
- Brys, I., Bobela, W., Schneider, B. L., Aebischer, P., & Fuentes, R. (2016). Spinal cord stimulation improves forelimb use in an alpha-synuclein animal model of Parkinson's disease. *The International Journal of Neuroscience*, *7454*(February), 1–9. <https://doi.org/10.3109/00207454.2016.1138296>
- Brys, I., Nunes, J., & Fuentes, R. (2017). Motor deficits and beta oscillations are dissociable in an alpha-synuclein model of Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience*, *46*(3), 1906–1917. <https://doi.org/10.1111/ejn.13568>
- Buzsaki, G. (2004). Neuronal Oscillations in Cortical Networks. *Science*, *304*(5679), 1926–1929. <https://doi.org/10.1126/science.1099745>

- Buzsáki, G., Anastassiou, C. a, & Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents--EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature Reviews. Neuroscience*, *13*(6), 407–420.
<https://doi.org/10.1038/nrn3241>
- Castle, M., Aymerich, M. S., Sanchez-Escobar, C., Gonzalo, N., Obeso, J. A., & Lanciego, J. L. (2005). Thalamic innervation of the direct and indirect basal ganglia pathways in the rat: Ipsi- and contralateral projections. *Journal of Comparative Neurology*, *483*(2), 143–153.
<https://doi.org/10.1002/cne.20421>
- da Silva, J. A., Tecuapetla, F., Paixão, V., & Costa, R. M. (2018). Dopamine neuron activity before action initiation gates and invigorates future movements. *Nature*, *554*(7691), 244–248.
<https://doi.org/10.1038/nature25457>
- Damodaran, S., Cressman, J. R., Jedrzejewski-Szmek, Z., & Blackwell, K. T. (2015). Desynchronization of Fast-Spiking Interneurons Reduces β -Band Oscillations and Imbalance in Firing in the Dopamine-Depleted Striatum. *Journal of Neuroscience*, *35*(3), 1149–1159.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3490-14.2015>
- de Andrade, E. M., Ghilardi, M. G., Cury, R. G., Barbosa, E. R., Fuentes, R., Teixeira, M. J., & Fonoff, E. T. (2015). Spinal cord stimulation for Parkinson's disease: a systematic review. *Neurosurgical Review*, *39*(1), 27–35. <https://doi.org/10.1007/s10143-015-0651-1>
- Deffains, M., & Bergman, H. (2019). Parkinsonism-related β oscillations in the primate basal ganglia networks – Recent advances and clinical implications. *Parkinsonism and Related Disorders*, *59*(December 2018), 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2018.12.015>
- Deffains, M., Iskhakova, L., Katabi, S., Israel, Z., & Bergman, H. (2018). Longer β oscillatory episodes reliably identify pathological subthalamic activity in Parkinsonism. *Movement Disorders*, *33*(10), 1609–1618. <https://doi.org/10.1002/mds.27418>
- DeLong, M. R. (1990). Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends in Neurosciences*, *13*(7), 281–285. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90110-V](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90110-V)
- Díaz-Hernández, E., Contreras-López, R., Sánchez-Fuentes, A., Rodríguez-Sibrían, L., Ramírez-Jarquín, J. O., & Tecuapetla, F. (2018). The Thalamostriatal Projections Contribute to the Initiation and Execution of a Sequence of Movements. *Neuron*, *100*(3), 739-752.e5.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.09.052>
- Duvoisin, R. (1987). History of parkinsonism. *Pharmacology and Therapeutics*, *32*(1), 1–17.
[https://doi.org/10.1016/0163-7258\(87\)90061-1](https://doi.org/10.1016/0163-7258(87)90061-1)
- Elkouzi, A., Vedam-Mai, V., Eisinger, R. S., & Okun, M. S. (2019). Emerging therapies in Parkinson

disease — repurposed drugs and new approaches. *Nature Reviews Neurology*, 15(4), 204–223.
<https://doi.org/10.1038/s41582-019-0155-7>

Fasano, A., Canning, C. G., Hausdorff, J. M., Lord, S., & Rochester, L. (2017). Falls in Parkinson's disease: A complex and evolving picture. *Movement Disorders*, 32(11), 1524–1536.
<https://doi.org/10.1002/mds.27195>

Féger, J., Bevan, M., & Crossman, A. R. (1994). The projections from the parafascicular thalamic nucleus to the subthalamic nucleus and the striatum arise from separate neuronal populations: A comparison with the corticostriatal and corticosubthalamic efferents in a retrograde fluorescent double-label. *Neuroscience*, 60(1), 125–132. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90208-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90208-9)

Fénelon, G., Goujon, C., Gurruchaga, J.-M., Cesaro, P., Jarraya, B., Palfi, S., & Lefaucheur, J.-P. (2012). Spinal cord stimulation for chronic pain improved motor function in a patient with Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 18(2), 213–214.
<https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2011.07.015>

Fuentes, R., Petersson, P., Siesser, W. B., Caron, M. G., & Nicoletis, M. A. L. (2009). Spinal Cord Stimulation Restores Locomotion in Animal Models of Parkinson's Disease. *Science*, 323(5921), 1578–1582. <https://doi.org/10.1126/science.1164901>

Gatev, P., Darbin, O., & Wichmann, T. (2006). Oscillations in the basal ganglia under normal conditions and in movement disorders. *Movement Disorders*, 21(10), 1566–1577.
<https://doi.org/10.1002/mds.21033>

Gerfen, C., Engber, T., Mahan, L., Susel, Z., Chase, T., Monsma, F., & Sibley, D. (1990). D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science*, 250(4986), 1429–1432. <https://doi.org/10.1126/science.2147780>

Greenfield, J. G., & Bosanquet, F. D. (1953). The brain-stem lesions in Parkinsonism. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 16(4), 213–226. <https://doi.org/10.1136/jnnp.16.4.213>

Grieb, B., von Nicolai, C., Engler, G., Sharott, A., Papageorgiou, I., Hamel, W., Engel, A. K., & Moll, C. K. (2013). Decomposition of abnormal free locomotor behavior in a rat model of Parkinson's disease. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 7(November), 1–11.
<https://doi.org/10.3389/fnsys.2013.00095>

Haber, S. N. (2003). The primate basal ganglia: Parallel and integrative networks. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 26(4), 317–330. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2003.10.003>

Habets, J. G. V., Heijmans, M., Kuijf, M. L., Janssen, M. L. F., Temel, Y., & Kubben, P. L. (2018). An update on adaptive deep brain stimulation in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 33(12),

1834–1843. <https://doi.org/10.1002/mds.115>

Hammond, C., Bergman, H., & Brown, P. (2007). Pathological synchronization in Parkinson's disease: networks, models and treatments. *Trends in Neurosciences*, *30*(7), 357–364.

<https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.05.004>

He, J., Barolat, G., Holsheimer, J., & Struijk, J. J. (1994). Perception threshold and electrode position for spinal cord stimulation. *Pain*, *59*(1), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90047-7](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90047-7)

Heimer, G., Bar-Gad, I., Goldberg, J. A., & Bergman, H. (2002). Dopamine replacement therapy reverses abnormal synchronization of pallidal neurons in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine primate model of parkinsonism. *Journal of Neuroscience*, *22*(18), 7850–7855.

<https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-18-07850.2002>

Henderson, J. M., Carpenter, K., Cartwright, H., & Halliday, G. M. (2000). Loss of thalamic intralaminar nuclei in progressive supranuclear palsy and Parkinson's disease: clinical and therapeutic implications. *Brain: A Journal of Neurology*, *123* (Pt 7, 1410–1421.

<https://doi.org/10.1093/brain/123.7.1410>

Herrero, M. T., Barcia, C., & Navarro, J. M. (2002). Functional anatomy of thalamus and basal ganglia. *Child's Nervous System*, *18*(8), 386–404. <https://doi.org/10.1007/s00381-002-0604-1>

Holt, A. B., Kormann, E., Gulberti, A., Pötter-Nerger, M., McNamara, C. G., Cagnan, H., Baaske, M. K., Little, S., Köppen, J. A., Buhmann, C., Westphal, M., Gerloff, C., Engel, A. K., Brown, P., Hamel, W., Moll, C. K. E., & Sharott, A. (2019). Phase-Dependent Suppression of Beta Oscillations in Parkinson's Disease Patients. *The Journal of Neuroscience*, *39*(6), 1119–1134.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1913-18.2018>

Huerta-Ocampo, I., Mena-Segovia, J., & Bolam, J. P. (2014). Convergence of cortical and thalamic input to direct and indirect pathway medium spiny neurons in the striatum. *Brain Structure & Function*, *219*(5), 1787–1800. <https://doi.org/10.1007/s00429-013-0601-z>

Johnson, L. A., Nebeck, S. D., Muralidharan, A., Johnson, M. D., Baker, K. B., & Vitek, J. L. (2016). Closed-Loop Deep Brain Stimulation Effects on Parkinsonian Motor Symptoms in a Non-Human Primate – is Beta Enough? *Brain Stimulation*. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2016.06.051>

Kafkafi, N., Mayo, C., Drai, D., Golani, I., & Elmer, G. (2001). Natural segmentation of the locomotor behavior of drug-induced rats in a photobeam cage. *Journal of Neuroscience Methods*, *109*(2), 111–121. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(01\)00392-2](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(01)00392-2)

Khanna, P., & Carmena, J. M. (2015). Neural oscillations: Beta band activity across motor networks. *Current Opinion in Neurobiology*, *32*, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.11.010>

- Kondabolu, K., Roberts, E. A., Bucklin, M., McCarthy, M. M., Kopell, N., & Han, X. (2016). Striatal cholinergic interneurons generate beta and gamma oscillations in the corticostriatal circuit and produce motor deficits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(22), E3159–E3168. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605658113>
- Kühn, A. A., Kupsch, A., Schneider, G. H., & Brown, P. (2006). Reduction in subthalamic 8-35 Hz oscillatory activity correlates with clinical improvement in Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience*, *23*(7), 1956–1960. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04717.x>
- Lanciego, J. L., Luquin, N., & Obeso, J. A. (2012). Functional neuroanatomy of the basal ganglia. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *2*(12), 1–20. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009621>
- Langlois, M., Polack, P. O., Bernard, H., David, O., Charpier, S., Depaulis, A., & Deransart, C. (2010). Involvement of the thalamic parafascicular nucleus in mesial temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience*, *30*(49), 16523–16535. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1109-10.2010>
- Linderoth, B., & Foreman, R. D. (1999). Physiology of spinal cord stimulation: Review and update. *Neuromodulation*, *2*(3), 150–164. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1403.1999.00150.x>
- Little, S., Pogosyan, A., Kuhn, A. A., & Brown, P. (2012). Beta band stability over time correlates with Parkinsonian rigidity and bradykinesia. *Experimental Neurology*, *236*(2), 383–388. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.04.024>
- Mallet, N., Pogosyan, A., Sharott, A., Csicsvari, J., Bolam, J. P., Brown, P., & Magill, P. J. (2008). Disrupted Dopamine Transmission and the Emergence of Exaggerated Beta Oscillations in Subthalamic Nucleus and Cerebral Cortex. *Journal of Neuroscience*, *28*(18), 4795–4806. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0123-08.2008>
- Mandelbaum, G., Taranda, J., Haynes, T. M., Hochbaum, D. R., Huang, K. W., Hyun, M., Umadevi Venkataraju, K., Straub, C., Wang, W., Robertson, K., Osten, P., & Sabatini, B. L. (2019). Distinct Cortical-Thalamic-Striatal Circuits through the Parafascicular Nucleus. *Neuron*, *102*(3), 636–652.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.02.035>
- Matsumoto, N., Minamimoto, T., Graybiel, A. M., & Kimura, M. (2012). *Neurons in the Thalamic CM-Pf Complex Supply Striatal Neurons With Information About Behaviorally Significant Sensory Events*. *Neurons in the Thalamic CM-Pf Complex Supply Striatal Neurons With Information About Behaviorally Significant Sensory Events*. 960–976.
- Melzack, R., & Wall, P. D. (1994). Pain mechanisms: A new theory. *Pain Clinic*, *7*(1), 57–72. <https://doi.org/10.1017/cbo9780511759048.009>

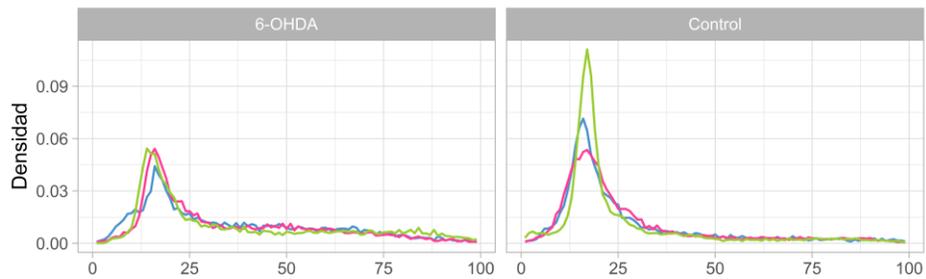
- Morris, M. E., Iansek, R., Matyas, T. A., & Summers, J. J. (1994). The pathogenesis of gait hypokinesia in parkinson's disease. *Brain*, *117*(5), 1169–1181. <https://doi.org/10.1093/brain/117.5.1169>
- Neafsey, E. J., Bold, E. L., Haas, G., Hurley-Gius, K. M., Quirk, G., Sievert, C. F., & Terreberry, R. R. (1986). The organization of the rat motor cortex: A microstimulation mapping study. *Brain Research Reviews*, *11*(1), 77–96. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(86\)90011-1](https://doi.org/10.1016/0165-0173(86)90011-1)
- Nini, A., Feingold, A., Sloviter, H., & Bergman, H. (1995). Neurons in the globus pallidus do not show correlated activity in the normal monkey, but phase-locked oscillations appear in the MPTP model of parkinsonism. *Journal of Neurophysiology*, *74*(4), 1800–1805. <https://doi.org/10.1152/jn.1995.74.4.1800>
- Okun, M. S. (2012). Deep-Brain Stimulation for Parkinson's Disease. *New England Journal of Medicine*, *367*(16), 1529–1538. <https://doi.org/10.1056/NEJMct1208070>
- Parker, P. R. L., Lalive, A. L., & Kreitzer, A. C. (2016). Pathway-Specific Remodeling of Thalamostriatal Synapses in Parkinsonian Mice. *Neuron*, *89*(4), 734–740. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.12.038>
- Parr-Brownlie, L. C., Poloskey, S. L., Bergstrom, D. A., & Walters, J. R. (2009). Parafascicular thalamic nucleus activity in a rat model of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, *217*(2), 269–281. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.02.010>
- Penney, J. B., & Young, A. B. (1983). Speculations on the Functional Anatomy of Basal Ganglia Disorders. *Annual Review of Neuroscience*, *6*(1), 73–94. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.06.030183.000445>
- Pinto de Souza, C., Hamani, C., Oliveira Souza, C., Lopez Contreras, W. O., dos Santos Ghilardi, M. G., Cury, R. G., Reis Barbosa, E., Jacobsen Teixeira, M., & Talamoni Fonoff, E. (2017). Spinal cord stimulation improves gait in patients with Parkinson's disease previously treated with deep brain stimulation. *Movement Disorders*, *32*(2), 278–282. <https://doi.org/10.1002/mds.26850>
- Raeva, S. N. (2006). The role of the parafascicular complex (CM-Pf) of the human thalamus in the neuronal mechanisms of selective attention. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, *36*(3), 287–295. <https://doi.org/10.1007/s11055-006-0015-y>
- Sadikot, A. F., Parent, A., & François, C. (1992). Efferent connections of the centromedian and parafascicular thalamic nuclei in the squirrel monkey: A PHA-L study of subcortical projections. *Journal of Comparative Neurology*, *315*(2), 137–159. <https://doi.org/10.1002/cne.903150203>
- Samotus, O., Parrent, A., & Jog, M. (2018). Spinal Cord Stimulation Therapy for Gait Dysfunction in Advanced Parkinson's Disease Patients. *Movement Disorders*, *33*(5), 783–792.

<https://doi.org/10.1002/mds.27299>

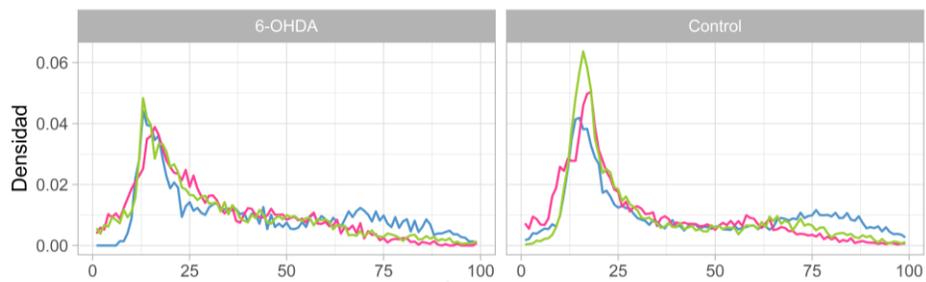
- Santana, M. B., Halje, P., Simplício, H., Richter, U., Freire, M. A. M., Petersson, P., Fuentes, R., & Nicoletis, M. A. L. (2014). Spinal cord stimulation alleviates motor deficits in a primate model of parkinson disease. *Neuron*, *84*(4), 716–722. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.08.061>
- Shealy, C. N., Mortimer, J. T., & Hagfors, N. R. (1970). Dorsal Column Electroanalgesia. *Journal of Neurosurgery*, *32*(5), 560–564. <https://doi.org/10.3171/jns.1970.32.5.0560>
- Shulman, L. M. (2010). Understanding disability in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, *25*(SUPPL. 1), 131–135. <https://doi.org/10.1002/mds.22789>
- Śławińska, U., & Kasicki, S. (1998). The frequency of rat's hippocampal theta rhythm is related to the speed of locomotion. *Brain Research*, *796*(1–2), 327–331. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(98\)00390-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)00390-4)
- Smith, Y., Bevan, M. D., Shink, E., & Bolam, J. P. (1998). Discussion. *Neuroscience*, *86*(2), 353–387. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00004-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00004-9)
- Smith, Y., & Parent, A. (1986). Differential connections of caudate nucleus and putamen in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Neuroscience*, *18*(2), 347–371. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(86\)90159-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(86)90159-4)
- Smith, Yolanda, Galvan, A., Ellender, T. J., Doig, N., Villalba, R. M., Huerta-Ocampo, I., Wichmann, T., & Bolam, J. P. (2014). The thalamostriatal system in normal and diseased states. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *8*(January), 5. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00005>
- Smith, Yolanda, Raju, D. V., Pare, J. F., & Sidibe, M. (2004). The thalamostriatal system: A highly specific network of the basal ganglia circuitry. *Trends in Neurosciences*, *27*(9), 520–527. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.07.004>
- Stern, G. (1966). The effects of lesions in the substantia nigra. *Brain*, *89*(3), 449–478. <https://doi.org/10.1093/brain/89.3.449>
- Surmeier, D. J., Ding, J., Day, M., Wang, Z., & Shen, W. (2007). D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. *Trends in Neurosciences*, *30*(5), 228–235. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.008>
- Thenganatt, M. A., & Jankovic, J. (2014). Parkinson disease subtypes. *JAMA Neurology*, *71*(4), 499–504. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.6233>
- Udupa, K., & Chen, R. (2015). The mechanisms of action of deep brain stimulation and ideas for the future development. *Progress in Neurobiology*, *133*, 27–49.

<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.08.001>

- Ungerstedt, U. (1971). Adipsia and Aphagia after 6-Hydroxydopamine Induced Degeneration of the Nigro-striatal Dopamine System. *Acta Physiologica Scandinavica*, 82(367 S), 95–122.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-201X.1971.tb11001.x>
- Ungerstedt, Urban. (1968). 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *European Journal of Pharmacology*, 5(1), 107–110. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(68\)90164-7](https://doi.org/10.1016/0014-2999(68)90164-7)
- Villalba, R. M., Wichmann, T., & Smith, Y. (2014). Neuronal loss in the caudal intralaminar thalamic nuclei in a primate model of Parkinson's disease. *Brain Structure and Function*, 219(1), 381–394.
<https://doi.org/10.1007/s00429-013-0507-9>
- Wallace, M. T., Meredith, M. A., & Stein, B. E. (1993). Converging influences from visual, auditory, and somatosensory cortices onto output neurons of the superior colliculus. *Journal of Neurophysiology*, 69(6), 1797–1809. <https://doi.org/10.1152/jn.1993.69.6.1797>
- Wang, M., Qu, Q., He, T., Li, M., Song, Z., Chen, F., Zhang, X., Xie, J., Geng, X., Yang, M., Wang, X., Lei, C., & Hou, Y. (2016). Distinct temporal spike and local field potential activities in the thalamic parafascicular nucleus of parkinsonian rats during rest and limb movement. *Neuroscience*, 330, 57–71. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.05.031>
- Zhang, H., Yang, J., Wang, X., Yao, X., Han, H., Gao, Y., Chang, H., Xiang, T., Sun, S., Wang, Y., Wang, X., & Wang, M. (2018). Altered Local Field Potential Relationship Between the Parafascicular Thalamic Nucleus and Dorsal Striatum in Hemiparkinsonian Rats. *Neuroscience Bulletin*. <https://doi.org/10.1007/s12264-018-0312-9>

ANEXO 1: Figuras suplementariasDistribución de Índice motor
300 Hz

130 Hz



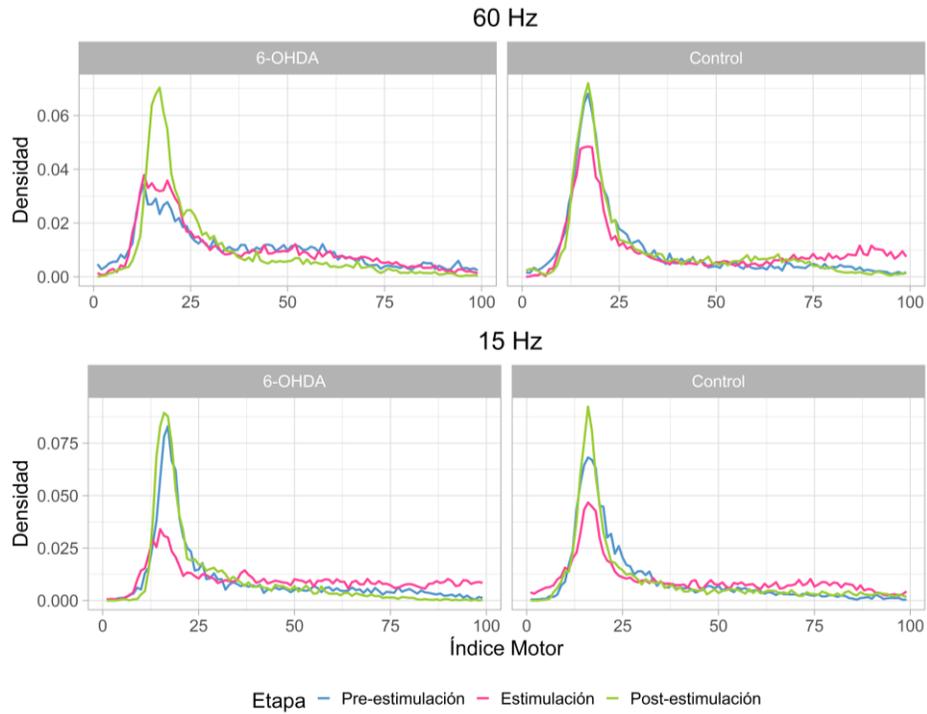
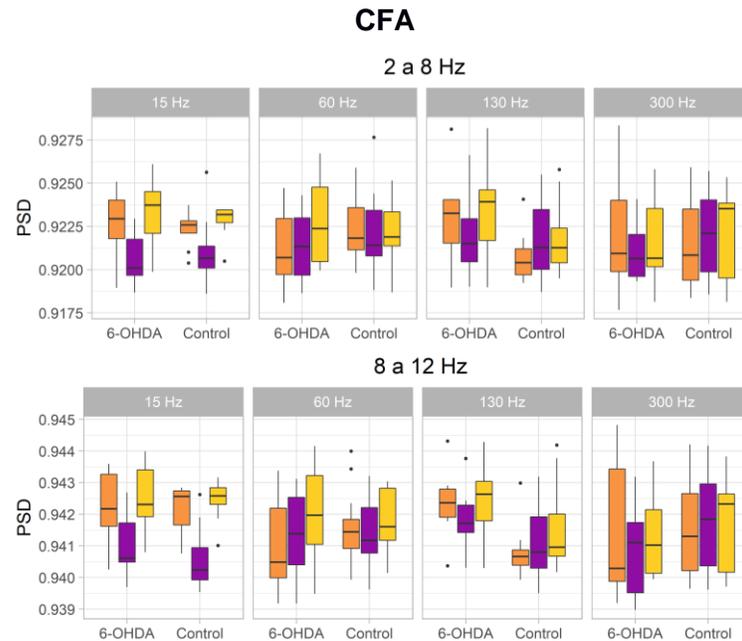


Figura suplementaria 1: PSD de la banda de 25 a 45 Hz en núcleo estriado dorsolateral (STR) para el grupo 6-OHDA y grupo control en las fases pre-estimulación (pre), durante la estimulación (on) y post estimulación (post) para las 4 frecuencias: 300 Hz, 130Hz, 60Hz, y 15Hz.



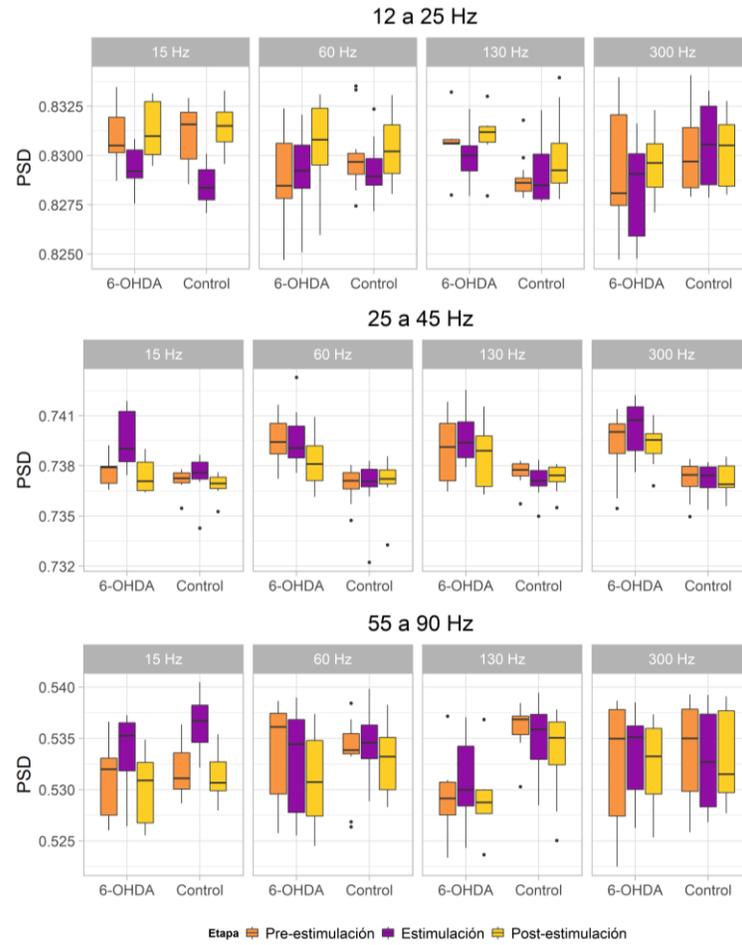
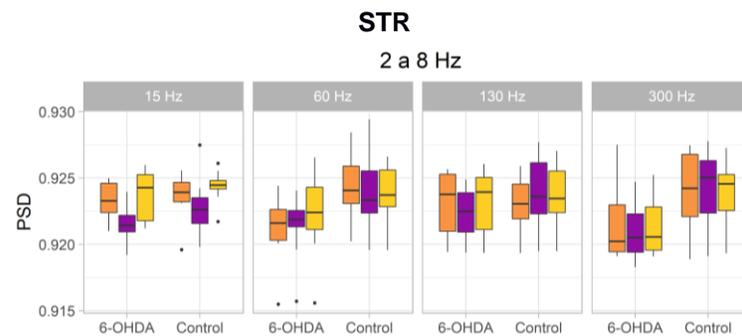


Figura suplementaria 2: PSD promedio para CFA en todas las bandas de frecuencia analizadas para el grupo 6-OHDA y grupo control en las fases pre-estimulación, durante la estimulación y post estimulación según frecuencia de estimulación



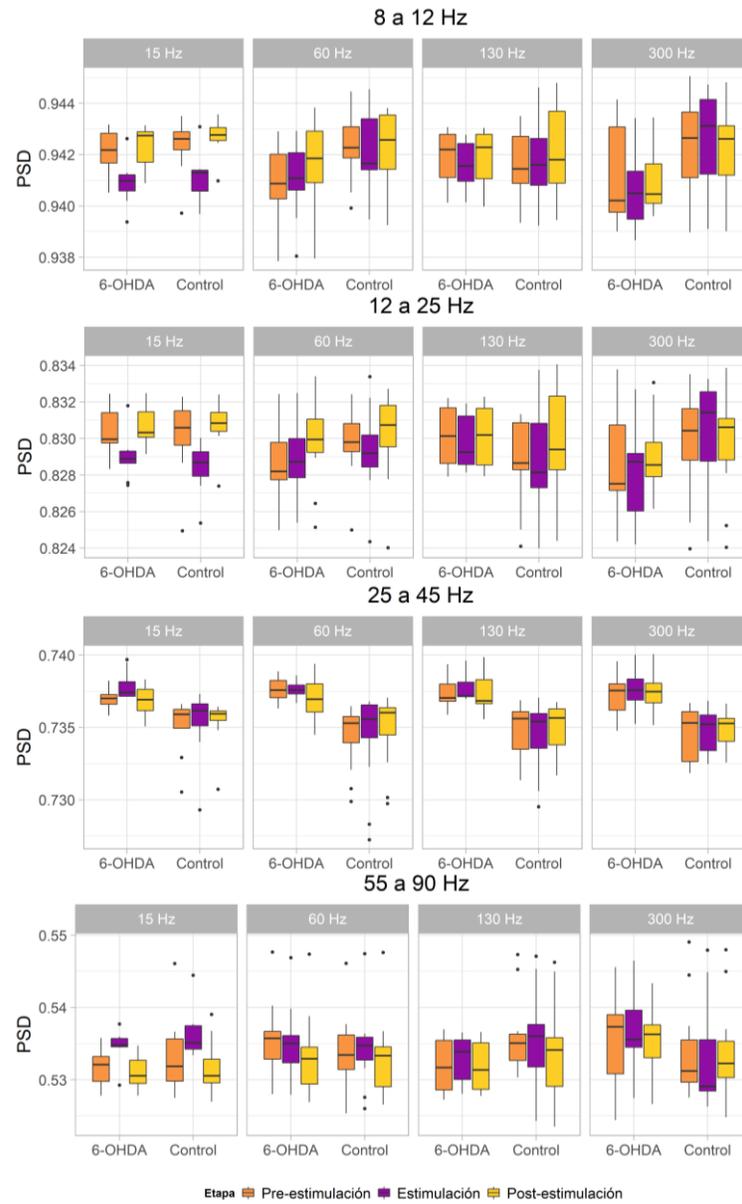
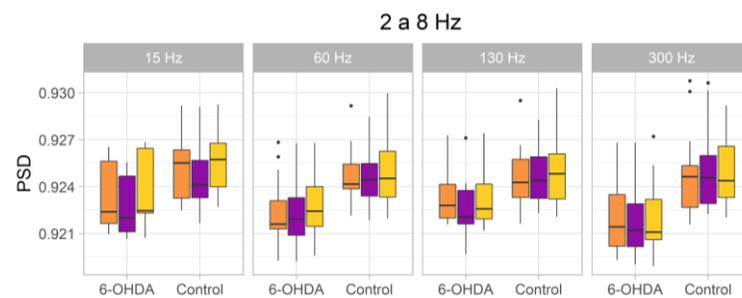


Figura suplementaria 3: PSD promedio para STR en todas las bandas de frecuencia analizadas para el grupo 6-OHDA y grupo control en las fases pre-estimulación, durante la estimulación y post estimulación según frecuencia de estimulación

Pf



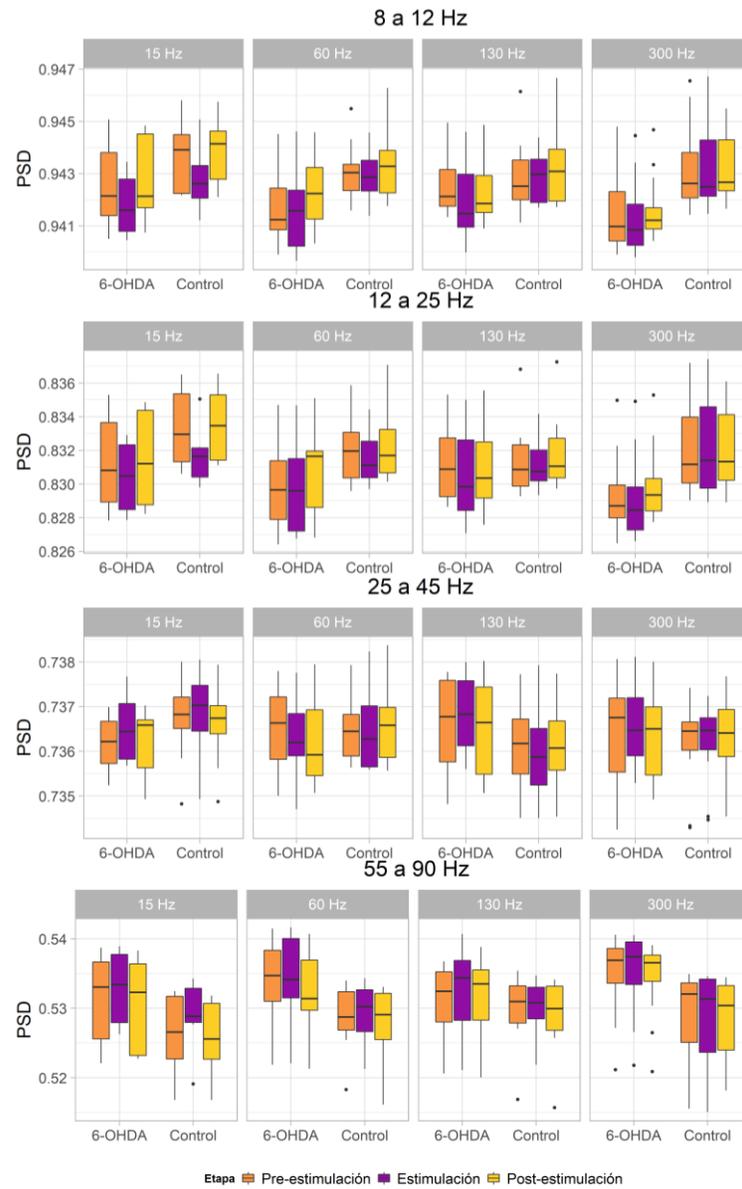


Figura suplementaria 4: PSD promedio para Pf en todas las bandas de frecuencia analizadas para el grupo 6-OHDA y grupo control en las fases pre-estimulación, durante la estimulación y post estimulación según frecuencia de estimulación

ANEXO 2 Tabla de animales intervenidos

	Animal	Exp	Outcome
1	R06	C01	Daño medular
2	NA02	C01	Animal se retira implante
3	NA03	C01	Rotura de electrodo medular. Ruptura de tierras de electrodo de registro
4	NA06	C01	Lesión con 6OHDA no efectiva
5	NA05	C01	Daño medular. Fallece en post operatorio
6	C03	C01	Muere en Qx de implante de registro
7	C04	C01	Fallece días posteriores a cirugía de lesión con 6OHDA

8	C05	C01	Se registra. IQH muestra 50% de pérdida de tinción de TH. Lesión electrolítica corrobora posición de electrodos en Pf derecho pero no en izquierdo
9	RR01	C01	Animal se retira implante
10	RR03	C01	Cerebro con ventriculomegalia. Anatomía alterada. Imposible realizar IHQ
11	RR04	C01	Fallece días posteriores a cirugía de lesión con 6OHDA
12	RR06	C01	Problemas con 6OHDA. Perfusión para análisis histológico de la lesión
13	RR02	C01	No se recupera de cirugía de lesión. Se eutanasia 3 días post cirugía (dolor, no se alimenta)
14	RR05	C01	Fallece en Qx de implante medular
15	Jarita	C01	Muere en Qx de implante medular por falla respiratoria (se administró tramadol prequirúrgico)

Se modifica arreglo de electrodos y áreas de registro

	Animal	Exp	Outcome
16	C06	C02	Fallece en cirugía de implante de registro
17	C09	C02	Fallece en cirugía de implante de registro
18	S01	C02	Registro parcial de experimentos. Electrodo medular se rompe
19	C07	C02	Lesión medular
20	C08	C02	Lesión medular
21	C10	C02	Electrodo medular defectuoso
22	C11	C02	Mala calidad de registros

Se modifica nuevamente arreglo de electrodos y áreas de registro

	Animal	Exp	Outcome
23	C12	C03	Demora en despertar después de cirugía de lesión. Se perfunde por error
24	C13	C03	Lesión medular
25	C14	C03	Completa registros
26	C15	C03	Completa registros
27	C16	C03	Fallece días posteriores a cirugía de lesión con 6OHDA
28	C17	C03	Con lesión electrolítica. Parapléjica
29	C18	C03	Completa registros
30	C19	C03	Fallece en Qx de lesión medular
31	C20	C03	Fallece en Qx de lesión medular
32	C21	C03	Fallece en Qx de lesión SHAM
33	C22	C03	Completa registros
34	C23	C03	Completa registros
35	C24	C03	Lesión con 6OHDA no efectiva
36	C25	C03	Se lesiona con 6OHDA de Control Motor. Perfusión para corroboración histológica de lesión (en contexto de falla de 6OHDA)
37	C26	C03	Se lesiona con 6OHDA de Claudio Hetz. Perfusión para corroboración histológica de lesión (en contexto de falla de 6OHDA)
38	C27	C03	Lesión con 6OHDA no efectiva
39	C28	C03	Fallece días post cirugía de implante medular
40	C29	C03	Completa registros
41	C30	C03	Lesión con 6OHDA no efectiva
42	C31	C03	Electrodo medular defectuoso. Se realizan registros baseline
43	C32	C03	Completa registros
44	C33	C03	Fallece días post cirugía de 6OHDA
45	C34	C03	Fallece días post cirugía de implante medular
46	C35	C03	Fallece en cirugía de implante medular
47	C36	C03	Electrodo de registro dañado. Electrodo solo en Pf bilateral y STR derecho
48	C37	C03	Completa registros de estimulación continua